Beitrag zur Kenntnis

der

aromatischen Körper

des

Harns

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung der philosophischen Doktorwürde

Vorgelegt der

HOHEN PHILOSOPHISCHEN FAKULTÄT

der

UNIVERSITÄT BASEL

von

Werner Mooser
von Altstätten (St. Gallen)

BASEL
Buchdruckerei Brin & Cie, Spalenvorstadt 9.
1908.

Beitrag zur Kenntnis

der

aromatischen Körper

des

Harns

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung der philosophischen Doktorwürde

ACAD. LUGD. BAT. BIBL.

Vorgelegt der

HOHEN PHILOSOPHISCHEN FAKULTÄT

der

UNIVERSITÄT BASEL

von

Werner Mooser
von Altstätten (St. Gallen)

BASEL
Buchdruckerei Brin & Cie., Spalenvorstadt 9
1908.

Genehmigt von der mathematisch-naturwissenschaftlichen Abteilung der philosophischen Fakultät auf Antrag der Herren Prof. Dr. *H. Rupe* und Prof. Dr. *R. Nietzki.*

Basel, den 10. Juli 1908.

Prof. Dr. F. Zschokke,
Dekan.

MEINER LIEBEN FRAU
GEWIDMET

Beitrag
zur Kenntnis
der aromatischen Körper
des Harns.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546714_0119

Einleitung.

Unsere Kenntnis über das Vorkommen und die Natur aromatischer Verbindungen in den Ausscheidungen des Tierkörpers verdanken wir namentlich den Arbeiten von *Nencki, Brieger, Hoppe-Seyler, Salkowski, Baumann* und anderer.

Was die Phenole anbetrifft, gebührt *Baumann*[1]) das Verdienst, den Nachweis ihrer Verbindungsformen geleistet zu haben. Es glückte ihm, nicht nur die phenylschwefelsauren Salze aus dem Harn zu isolieren, sondern auch, diese Verbindungen synthetisch herzustellen.

Angesichts dieser Forschungen ist es auffallend, dass die Frage nach dem Einfluss dieser Körper auf das Pflanzenwachstum, nach ihrer Wirkung auf die Bodenbakterien und nach ihrem weiteren Schicksal im Boden in agrikulturchemischen Kreisen unseres Wissens noch keine Achtung gefunden hat, — ist doch der vergorene Rinderharn in vielen Gegenden von alters her neben dem Stallmist das wichtigste Düngmittel und benutzt ihn die Technik teilweise noch heute als Ausgangsmaterial zur Darstellung von Benzoesäure.

Der Wunsch, die flüssigen Exkremente des Tierkörpers in dieser Richtung zu untersuchen, die Bedeutung gewisser aromatischer Substanzen des Harnes in Bezug auf die Düngung festzustellen, veranlasste den Vorstand der agrikulturchem. Anstalt Bern, Herrn Dr. P. *Liechti* schon vor Jahren, dem Studium dieser Körper seine Aufmerksamkeit zu widmen. Die Wichtigkeit weiterer Kenntnisse auf diesem Gebiete ergibt sich leicht,

[1]) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. IX. 54, 1716 (1876), XI. 1907 (1878).

wenn man bedenkt, dass speziell in der Schweiz der vergorene Harn (Gülle) in landwirtschaftlichen Betrieben das allgemeinste Düngmittel ist und in Mengen bis zu 1000 hl pro ha vielerorts auf die Wiesen gebracht wird.

Nachdem früher[1]) schon durch Vegetationsversuche der Wert des Güllestickstoffs im Vergleich zu Salpeter und schwefelsaurem Ammoniak klargelegt worden, führte die nähere Kenntnis der oben gestreiften Literaturangaben zu der Vermutung, dass die antiseptische Wirkung einiger dieser aromatischen Substanzen auf die Bakterienflora des Bodens nicht ohne Einfluss sein könne.

Demgemäss schien es von Wichtigkeit, den hervorragendsten Vertretern dieser organischen Körper in dem vergorenen Harne, nämlich der *Benzoesäure* und den *Phenolen,* bezw. den phenyl- und kresylschwefelsauren Salzen vorerst unsere Aufmerksamkeit zu widmen.

Geschichtliches.

Der erste, welcher mit Erfolg die Untersuchung des Kuhharns sich zum Ziele setzte, ist *G. Städeler.*[2]) In seiner Arbeit: „Ueber die flüchtigen Säuren des Harns" teilt er mit, dass er in demselben Phenol, — Phenylsäure, wie er es nannte, — aufgefunden habe. Gleichzeitig führt er an, dass ihm bei der Harndestillation ein „schwach gelb gefärbtes, stickstoffhaltiges Oel von durchdringendem Geruch" aufgefallen sei. Eine nähere Untersuchung desselben musste wegen zu geringer Ausbeute unterbleiben.

Neben Phenol fand *Städeler* auch die von ihm sogenannte „Taurylsäure", für welche er die Formel $C_{14}H_8O_2$ als wahrscheinlich annahm, die damals für den, mit dem Namen „Kreosot" bezeichneten Körper galt. Dieser letztere wäre nach *Städeler* nichts anderes als Phenylsäure — seine Taurylsäure ist also zweifelsohne das Parakresol, welches die Hauptmenge der Phenole des Kuhharns ausmacht.

Endlich glaubte *Städeler* in der „Damalur-und Damolsäure" zwei noch unbekannte, organische Säuren aufgefunden zu haben. Während er die erste dieser beiden in die Fettreihe verwies, schrieb er der Damolsäure aromatische Eigenschaften zu.

[1]) Landwirtschaftl. Jahrbuch der Schweiz XVIII, 141 (1904).
[2]) Ann. d. Chem. & Pharm. B. LXXVII, 17 (1851).

Schotten[1]) wies aber mit Bestimmtheit nach, dass die Damolsäure *Städelers* eine Fettsäure von mindestens acht C-Atomen, die Damalursäure aber ein Gemisch von aliphatischen Säuren mit Benzoesäure ist. Das gelblich-grüne Oel Städelers scheint nicht weitere Beachtung gefunden zu haben; wir werden in einer späteren Arbeit auf dasselbe zurückkommen.

Buliginsky[2]) beschäftigte sich namentlich mit dem Studium der flüchtigen Säuren des Rinderharns und stellte fest, dass in demselben mit Bestimmtheit auf die Anwesenheit von nicht unbedeutenden Mengen Essigsäure und Ameisensäure gezählt werden könne. Die Frage, ob „Karbolsäure" präformiert im Harn vorkomme, glaubt er zum voraus verneinend beantworten zu dürfen. Seine Untersuchungen führen ihn zu der Erkenntnis, dass überhaupt weder freie, noch an Alkali gebundene Carbolsäure im Harn existiert, dass dieselbe sich andrerseits aber nach Behandlung des Harns mit Mineralsäuren im Destillate und Aetherauszuge nachweisen lässt.

Smith[3]) beschränkt sich auf den Nachweis von Benzoesäure und Hippursäure in verschiedenen Pferdeharnen und glaubt die erstere als charakteristisch für Pferde während der Ruhezeit, letztere als typisch für Pferde im Arbeitszustand ansehen zu dürfen.

Munk[4]) untersuchte den Tagesharn von drei milchenden Kühen in bezug auf den Stickstoffgehalt, das Verhältnis der freien und gebundenen Schwefelsäure und den Phenolgehalt. Er fand, dass sich dieser Harn von allen genauer untersuchten Tierharnen durch das konstante bedeutende Ueberwiegen der gebundenen Schwefelsäuren über präformierte auszeichne.

Vorversuche.

Angesichts dieser spärlichen Literaturangaben über die Zusammensetzung des Pflanzenfresserharns schien es uns vor allem nötig, durch eigene, qualitative Untersuchungen zu einem unge-

[1]) Ztschr. physiolog. Chem. VII, 375. (1882/1883).

[2]) Med. chem. Unters. v. Hoppe-Seyler 2. H. (1867).

[3]) Proc of. R. S. 46. 328.

[4]) Malys. Ber. X, 288 (1880) [a. Arch. f. Anat. & Physiol. Suppl.-Bd. z. phys. Abt. pag. 22].

fähren Bilde über die für uns wesentlichen Bestandteile des Herbivorenharns zu gelangen.

Wir wählten dazu den während des Tages gelassenen Mischharn von drei Kühen. Der Harn wurde während der Entleerung aufgefangen, sofort in Mengen von 5 Litern mit 20% Kalkmilch vermischt und mittelst einer Dampfspirale zum Kochen gebracht. Nach $^1/_2$-stündigem Sieden wurde die Flüssigkeit heiss coliert und das Filtrat ohne Verzug auf dem Wasserbad zur Sirupkonsistenz eingedampft. Diese portionsweise Behandlung von frischem Kuhharn wurde fortgesetzt, bis die Menge des in Bearbeitung gezogenen Harns 50 Liter betrug. Die konzentrierte Lösung der vereinigten Filtrate — mit Wasser auf ca. 8 Liter verdünnt und durch Filtration von einem Rest ausgeschiedenen Kalks, der deutlich Cumaringeruch aufwies, getrennt — wurde zur Abscheidung des grössten Teils der Hippursäure mit Salzsäure übersäuert.

Nach dem Absetzen wurde die Flüssigkeit von dem ausgeschiedenen Kristallgemenge durch Filtration getrennt, hierauf destilliert und die Destillate gesondert aufgefangen. Die ersten derselben waren stark milchig getrübt und von äusserst durchdringendem Geruch, während die späteren klar blieben. Die Destillation wurde solange fortgesetzt, bis der ätherische Auszug einer Probe keinen Rückstand hinterliess. Die nun erfolgenden Ausschüttelungen der Fraktionen mit Aether ergaben bei sämtlichen Proben ölartige Rückstände von bräunlicher Farbe und gleichem qualitativem Verhalten, was uns einer weiteren gesonderten Behandlung derselben enthob.

Nach Vereinigung und Verdunstung sämtlicher Auszüge verblieb ein saurer Rückstand, der mit Wasser aufgeschwemmt, schwach erwärmt und unter stetem Schütteln mit kohlensaurem Kalk übersättigt wurde. Die Umsetzung ging gegen das Ende sehr träge von statten, und zuletzt hatten sich die ölartigen Tropfen in eine braune, teigige Masse verwandelt, aus welcher langsam Bläschen von Kohlensäure entwichen. Die überstehende, nun geklärte Flüssigkeit reagierte leicht alkalisch.

Das Verschwinden der öligen Tropfen und die lang andauernde Entwicklung von Kohlensäure liessen uns eine Verbindung der Phenole mit dem kohlensauren Kalk vermuten, umsomehr,

als schon *Baumann*[1]) s. Z. den Nachweis geliefert hat, dass die Einwirkung von Phenol auf kohlensaures Kali — allerdings bei Siedehitze — bis zur vollständigen Ueberführung in Phenolat stattfinden kann.

Da nicht ohne weiteres anzunehmen war, dass sich die Phenole kohlensaurem Kalk gegenüber in ähnlicher Weise verhalten würden, untersuchten wir die Einwirkung von Calciumcarbonat auf Phenol und Parakresol in folgender Weise.

Durch einen Kolben mit Hahntrichter und aufsteigendem Kühler, in dessen zweiter Oeffnung eine absteigende Röhre endigte, die mit einer, vollkommen klares Barytwasser enthaltenden, Woulff-schen Flasche in Verbindung gesetzt werden konnte, wurde vorerst während zwei Stunden kohlensäurefreie Luft geleitet. Nachdem sämtliche Kohlensäure entfernt war, beschickten wir den Kolben mit 15 gr. präzipitiertem, frisch ausgewaschenem Calciumcarbonat, das in ca 200 cm über Calciumpermanganat destillierten Wassers aufgeschlemmt war und erhitzten das Gemenge unter Durchleiten von kohlensäurefreier Luft während einer Viertelstunde zum Sieden. Nach dem Erkalten war das Barytwasser in der Vorlage völlig klar. Hierauf wurde dem Kolbeninhalt eine kohlensäurefreie, wässerige Lösung von 6 gr. Phenol beigefügt, zunächst in der Kälte wieder kohlensäurefreie Luft durchgeleitet und nach einiger Zeit mit der, Barytwasser enthaltenden Vorlage verbunden. Eine bald erscheinende, wenn auch schwache Trübung des Barytwassers deutete auf das Auftreten geringer Mengen Kohlensäure hin. Nach dem Erhitzen des Phenol-Kalkgemisches bildete sich in der Vorlage alsbald ein Niederschlag von Baryumcarbonat, der sich bei Forsetzung des Kochens sichtbar vermehrte. Der Kolbeninhalt zeigte nach Unterbrechung der Destillation stark alkalische Reaktion.

Denselben Versuch stellten wir mit Parakresol an, wobei sich ergab, dass diese Substanz auf Calciumcarbonat noch intensiver einwirkte als Phenol.

Der Beweis der Zersetzbarkeit von Calciumcarbonat durch Phenol und Parakresol ist somit geleistet und wird uns Gelegenheit geboten sein, bei der quantitativen Bestimmung der Phenole auf diesen Punkt des Näheren zurückzukommen.

[1]) Ber. d. deutsch. chem. Ges. X. 607 (1877).

Gestützt auf diese Erfahrungen und quantitative Untersuchungen, bezüglich deren Resultate wir auf den speziellen Teil dieser Arbeit verweisen, destillierten wir das mit kohlensaurem Kalk übersättigte Gemisch unter gleichzeitigem Einleiten von Kohlensäure. Das milchig getrübte Destillat wurde mit Aether erschöpft, und der Rückstand des aetherischen Auszuges der fraktionierten Destillation unterworfen. Nach Austreiben des Wassers stieg das Thermometer rasch auf 198° C., bei welcher Temperatur die Hauptmenge der Substanz überdestillierte, dann erreichte es 201° und schliesslich erhielt sich das Quecksilber bis zum Schluss der Destillation konstant auf der Höhe von 204,5° C. (Barometerstand 716,6 mm, T. 16°). Aussehen und qualitatives Verhalten liessen uns das farblose, stark lichtbrechende, ölige Destillat als ein Gemenge von Kresol und Phenol ansprechen. Allerdings deuteten der Geruch, die hohe Schlusstemperatur bei der Destillation und das Verhalten des Gemisches gegenüber konzentrierter Kalilauge auf das Vorhandensein eines weiteren, uns noch unbekannten Körpers hin. Versetzt man nämlich das ölige Destillat mit konzentrierter Kalilauge, so resultiert anfänglich eine klare Lösung, die durch weiteren Zusatz sich milchig trübt, ein Verhalten, welches Phenol und Parakresol nicht aufweisen.

Bezüglich einer eingehenderen Besprechung der Natur und der Eigenschaften dieses, sowohl in frischem wie in vergorenem Harn enthaltenen Körpers, verweisen wir auf spätere Ausführungen.

Der nach dem Destillieren mit Kohlensäure verbleibende, nun phenolfreie Kolbeninhalt, wurde in der Kälte mit verdünnter Schwefelsäure übersäuert und wiederum destilliert. In der übergegangenen Flüssigkeit wurden die organischen Säuren mittelst ihres Verhaltens gegenüber Lösungsmitteln und Baryumcarbonat getrennt und es liessen sich hiebei Benzoësäure und in kleiner Menge Essigsäure nachweisen, während wider Erwarten die Prüfung auf das Vorhandensein von Ameisensäure negativ verlief.

Durch weitere Untersuchungen von vergorenem Kuhharn gelangten wir zu der Ueberzeugung, dass für die beabsichtigten Versuche die Harnphenole und die Benzoesäure in erster Linie zu berücksichtigen sind.

Harn-Phenole.

Analytisches.

Die Frage der quantitativen Bestimmung von Phenolen ist durchdie Arbeiten von *Koppeschaar*[1]) für Phenol, namentlich aber durch diejenigen von *Messinger* und *Vortmann*[2]) für Phenol und Kresol bedeutend gefördert worden. Frühere Bestimmungsarten beschränkten sich auf die Wägung des Tribrom-Phenolniederschlages, während *Koppeschaar,* wie *Messinger* und *Vortmann* Titrationsmethoden ausarbeiteten, deren Genauigkeit von *Kossler* und *Penny*[3]) eingehend untersucht wurde.

Unsere Untersuchungen erstrecken sich vorerst auf die Prüfung des von *Kossler* und *Penny* abgeänderten *Messinger-Vortmann-schen* Verfahrens.

Das hiezu verwendete Parakresol, wie das synthetische Phenol erwies sich nach der Siede- und Schmelzpunktbestimmung sowie nach eingehender qualitativer Prüfung als vollkommen rein und war vor seiner Verwendung längere Zeit in fein zerriebenem Zustande über Schwefelsäure getrocknet worden.

Vorerst nahmen wir Bestimmungen mit reinen Phenol- bezw. Parakresollösungen von bekanntem Gehalt vor. (Tabelle I.)

Aus den in Tabelle I niedergelegten Zahlen geht hervor, dass die Genauigkeit der Methode nichts zu wünschen übrig lässt.

[1]) Zeitschr. analyt. Chem. XV, 233 (1876).

[2]) Ber. d. deutsch. chem. Ges. XXII, 2313 (1889).

[3]) Zeitschr. physiol. Chem. XVII, 117 (1893).

Da nicht ohne weiteres anzunehmen war, dass bei einer Destillation von Phenol oder Kresol-Lösungen von bekanntem Gehalt dieselben guten Resultate erhalten würden, führten wir, umsomehr als in der uns zu Gebote stehenden Literatur keine diesbezüglichen Angaben sich vorfanden, gleiche Versuche mit vorgängiger Destillation aus. Die dabei erhaltenen Resultate weisen darauf hin, dass eine unter guter Kühlung vorgenommene Destil lation reiner wässriger Phenol- und Kresollösungen keine Fehlerquelle bedingt. (Tabelle II.)

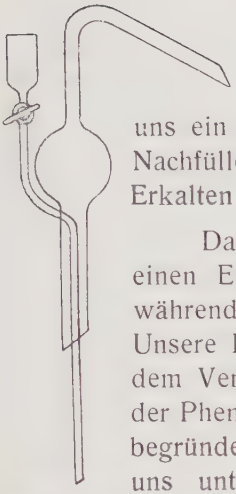
Zur Abscheidung der Harnphenole aus ihren aetherschwefelsauren Salzen ist bisher allgemein eine Destillation des konzentrierten Harns mit Schwefelsäure vorgenommen worden; *Kossler* und *Penny* geben dementsprechend an, dass dem auf ein Fünftel eingedampften Harn so viel Schwefelsäure zuzusetzen sei, bis die Flüssigkeit ca. 5% der ursprünglichen Harnmenge davon enthalte. Wie lange die wiederholte Destillation fortzusetzen sei, bezw. auf welches Volumen die saure Harnflüssigkeit jeweilen konzentriert werden soll, wird nicht angegeben.

Allerdings führen *Neubauer* und *Vogel*[1]) an, dass der mit Schwefelsäure versetzte Harn bloss bis zur Hälfte abzudestillieren sei; so viel wir ersehen konnten, machen aber die betr. Autoren diesen Vorbehalt nur, um die Abspaltung jodbindender Substanzen zu verhüten.

Dass der Grad der Konzentration der, freie Schwefelsäure enthaltenden, Harnflüssigkeit auf die Phenole selbst von Einfluss sein könnte, wird von keiner Seite erwähnt.

Frühere Erfahrungen führten uns dazu, die eventuelle Einwirkung der Schwefelsäure auf reine Phenol- bezw. Kresollösungen unter den bei dem *Kossler-Penny'schen* Verfahren herrschenden Bedingungen zu studieren. Es wurde dabei in der Weise verfahren, dass je 150 ccm Phenollösungen von bekanntem Gehalt nach Zusatz von 25 ccm konzentrierter Schwefelsäure auf ca. 100 ccm konzentriert wurden. Die Destillation wurde unter Ersatz des verdampften Wassers so lange wiederholt, bis die übergehende Flüssigkeit mit Millons Reagens keine Färbung mehr ergab, was nach sechsmaliger Destillation stets der Fall war.

[1]) Neubauer und Vogel, Anal. d. Harns, X. Aufl. 186.



Zu diesen, wie zu den folgenden Bestimmungen benutzen wir den in der Skizze abgebildeten Aufsatz aus Jenaerglas, der uns ein Uebersprizen der Flüssigkeit sowie das zum Nachfüllendes Wassers zeitraubende Abwarten bis zum Erkalten vermeiden liess. (Tabelle III.)

Das Ergebnis dieser Bestimmungen zeigt deutlich einen Einfluss der Schwefelsäure auf das p-Kresol, während das Phenol sich als widerstandsfähiger erwies. Unsere Befürchtung, dass durch die Schwefelsäure bei dem Verfahren nach *Kossler-Penny* eine Sulfurierung der Phenole in kleinem Masstabe eintrete, scheint hiermit begründet zu sein. Leider aber scheiterten alle von uns unternommenen Versuche, Sulfosäuren aus den Destillationsrückständen zu isolieren infolge ihrer geringen Menge und des grossen Schwefelsäureüberschusses. Wir müssen uns daher darauf beschränken, die Tatsache eines Verlustes an p-Kresol zu konstatieren.

Versuche, den Gehalt reiner Phenollösungen nach dem von *Neubauer* und *Vogel*[1]) angegebenen Verfahren zu bestimmen, führten zu keinem befriedigenden Ergebnis, indem vom vorhandenen Phenol im Mittel 90,6% und vom p-Kresol nur 76,6% zurückerhalten wurden. Der Grund zu diesen schlechten Resultaten liegt in einem Hauptfehler dieser Methode, nämlich in der Unmöglichkeit, aus verdünnten Lösungen die Phenole quantitativ abdestillieren zu können — eine Tatsache, die schon von *Kossler* und *Penny* angeführt wird.[2])

Die Ueberzeugung, dass die Verwendung der Schwefelsäure die Genauigkeit des Verfahrens von *Kossler* und *Penny* beeinträchtigte, liess uns einen Ersatz derselben durch eine andere, mit Wasserdämpfen nicht flüchtige Mineralsäure suchen. Wir fanden einen solchen in chemisch reiner sirupöser Phosphorsäure[3]) die in gleichen Mengen, wie die Schwefelsäure zur Verwendung ge-

[1]) loc. cit. p. 786.

[2]) loc. cit. 137.

[3]) Gehalt an P_2O_5: 65,03 %, entsprechend 96,86 % H_3PO_4.

langte. Wir machten hiebei die Erfahrung, dass ein starkes Konzentrieren des Kolbeninhaltes die Genauigkeit der Bestimmung in keiner Weise beeinflusst und die Resultate in Tabelle IV zeigen klar eine Verbesserung des Verfahrens bei Ersatz der Schwefelsäure durch Phosphorsäure. (Tabelle IV.)

Neuberg[4]) hat früher nachgewiesen, dass die Methode *Kossler-Penny* bei der Bestimmung von Phenolen in zuckerhaltigen Harnen zu hohe Resultate gibt. Die Erklärung hierüber liegt in der von *Salkowski* bewiesenen Tatsache der Bildung von Jodoform durch aldehydartige Substanzen, entstanden durch die Einwirkung der Schwefelsäure auf den Zucker.

Auch in dieser Richtung studierten wir den Einfluss der Phosphorsäure.

Parakresollösungen von bestimmtem Gehalt wurden nach Zusatz von 5 g Traubenzucker sowohl mit Phosphorsäure, als auch mit Schwefelsäure destilliert. Bei Verwendung von Phosphorsäure wurden vom vorhandenen Kresol 99.94 % resp. 99,9 % bei Schwefelsäure 122,3 % resp. 124,2 % erhalten. Versuche mit Phenol ergaben das nämliche Resultat (zurückgef. bei Phosphorsäureverwendung 99,8 %, bei Schwefelsäure 124,4 %). Auch hier zeigt sich also der Vorteil einer Verwendung von Phosphorsäure.

Dass durch die Phosphorsäure reine Lösungen von phenyl- und kresylschwefelsauren Salzen ebenso rasch und vollständig wie durch Schwefelsäure zerlegt werden, haben wir uns durch Versuche überzeugt. Wir führen vorgreifend an dieser Stelle an, dass bei Destillation von Harnen mit Phosphorsäure die Zersetzung der aetherschwefelsauren Salze etwas langsamer vor sich zu gehen scheint, als bei Verwendung von Schwefelsäure.

Wie wir im Vorhergehenden nachgewiesen haben, vermögen Phenol und p-Kresol Calciumcarbonat unter Bildung von Phenolaten zu zersetzen. Nun verwenden aber *Kossler* und *Penny* zur Absättigung der flüchtigen Säuren des Destillats gerade Calciumcarbonat und rektifizieren dasselbe auch über einem Ueberschuss von solchem.

Da nach Früherem ein Einfluss des Calciumcarbonats auf die quantitative Bestimmung der Phenole zu erwarten war, andrerseits aber zur Bestätigung und Trennung von Phenolen und

[4]) Physiol. Chem, XXVII, 123-134 (1899).

Säuren Calciumcarbonat allgemein empfohlen wird, destillierten wir Phenol- und p-Kresollösungen von bekanntem Gehalt über kohlensaurem Kalk, wobei die in Tabelle V enthaltenen Werte gefunden wurden. Aus diesen geht deutlich hervor, dass sowohl bei Phenol, als auch bei p-Kresol Verluste eintreten können, deren Grösse eine sehr wechselnde ist. Während bei Phenol aus uns zwar unbekannten Gründen mehrmals die theoretische Menge zurückerhalten wurde, trat dieser Fall bei p-Kresol niemals ein. Es scheint überhaupt Calciumcarbonat auf p-Kresol intensiver einzuwirken als auf Phenol. Auch glauben wir aus der, während der Destillation auftretenden orange-gelben Färbung des Kolbeninhalts schliessen zu dürfen, dass dieVerluste bei p-Kresol nicht bloss auf die Bildung von Phenolat zurückzuführen sind. (Tabelle V).

Um diesem Uebelstande eines Verlustes an Phenolen bei Verwendung von kohlensaurem Kalk zu begegnen, führten wir nun die Destillation über Kalkcarbonat unter gleichzeitigem Durchleiten von Kohlensäure aus.

Die dabei erzielten Resultate (Tab. VI) sind überaus günstige, indem sowohl bei Phenol, als auch bei p-Kresol die theoretischen Mengen gefunden wurden.

Aus einer, allerdings unklaren Angabe von *Runge*[1]) könnte man schliessen, dass eine quantitative Zerlegung von Kalkphenolat durch Kohlensäure Schwierigkeiten bietet, aus Tabelle VI geht aber zur Genüge hervor, dass eine derartige Annahme keineswegs berechtigt ist. (Tabelle VI).

Die Verwendung von Kohlensäure bietet nicht bloss grosse Vorteile bei der quantitativen Trennung von Phenolen und Säuren mittelst Calciumcarbonat, sondern wir haben in derselben auch ein ebenso bequemes als zuverlässiges Mittel zur Bestimmung der freien Phenole in Gemischen von solchen mit phenylschwefelsauren Salzen gefunden.

Lösungen von phenyl- oder kresylschwefelsauren Alkalien werden nämlich selbst bei mehrstündiger Destillation unter gleichzeitigem Durchleiten von Kohlensäure nicht zerlegt, wie wir uns durch eine grosse Zahl von Versuchen mit reinen Lösungen und Harnen hinreichend überzeugen konnten.

[1]) Annal. Physik. & Chem. XXXII, 308 (1834).

Das Einleiten der Kohlensäure erfolgt durch den Hahntrichter des auf Seite 15 angegebenen Destillationsaufsatzes, dessen Röhre, bis fast auf den Boden des Kolbens hinreichend, verlängert war.

Da sich in den, mit Kalkcarbonat abzusättigenden Harndestillaten auch salpetrige Säure vorfinden kann, deren Anwesenheit bei der Titration der Phenole ausgeschlossen sein muss, untersuchten wir auch, ob bei Destillation einer Calciumnitritlösung unter Durchleiten von Kohlensäure salpetrige Säure abgespalten werde. Die bezüglichen Versuche ergaben ein negatives Resultat und schliessen die Befürchtung der Anwesenheit dieser Säure im letzten, die reinen Phenole enthaltenden Destillate aus.

Das Durchleiten von Kohlensäure hat den weitern, nicht zu unterschätzenden Vorteil, die Destillation alkalischer Harne durch Vermeidung des lästigen Stossens und Ueberschäumens bedeutend zu erleichtern.

Die Notwendigkeit einer Verwendung von Kohlensäure zur Phenolbestimmung liess uns jetzt noch die Frage stellen, ob die Absättigung des ersten Destillates nicht durch ein anderes Salz als Calciumcarbonat möglich wäre. Von den in Betracht kommenden Verbindungen schien uns am meisten der Borax die Möglichkeit eines Ersatzes zu bieten; die angestellten Versuche liessen uns aber von seiner Verwendung absehen.

Nach Abschluss der Versuche mit reiner Phenol- und p-Kresollösung gingen wir nun dazu über, die auf Grund unserer Untersuchungen sich als notwendig erweisenden Abänderungen der bisherigen Phenolbestimmungsmethode an Harnen zu erproben. Zu diesem Zwecke zogen wir sowohl Menschen- als Tierharn (Kuhharn) in Untersuchung

Zunächst war es uns darum zu tun, den im Frühern besprochenen Einfluss der Schwefelsäure nachzuweisen. Wir unternahmen hiezu folgenden Versuch:

Gleiche Mengen desselben frischen Harns (Mensch und Kuh) wurden mit Schwefelsäure, bezw. Phosphorsäure versetzt und durch Destillation phenolfrei gemacht, wovon wir uns durch Millons Reagens überzeugten. Hierauf wurde die Destillation nach Wechsel der Vorlage und unter jeweiligem Ersatz der abdestillierten Flüssigkeit zwei Stunden fortgesetzt und das Destillat titriert.

Sowohl die aus Menschen- als auch aus Kuhharn unter Verwendung von Schwefelsäure erhaltenen Destillate enthielten jodbindende Substanzen. Im ungünstigsten Falle wurden 18,9 ccm, 1/10 Normaljodlösung verbraucht, was einer Menge von 0,341 g Kresol entspricht. Bei Gebrauch von Phosphorsäure hingegen war die Menge der jodbindenden Substanzen nur eine höchst geringe und keines der Destillate erforderte über 0,3 ccm 1/10 Normal-Jodlösung.

Die Verwendung von Schwefelsäure erscheint aber nicht nur aus den soeben angegebenen Gründen als nachteilig, sondern auch wegen der Eigenschaft, die wir bei der Untersuchung von Kuhharn feststellen konnten. Destilliert man nämlich Kuhharn mit Phosphorsäure bis zur Phenolfreiheit und setzt die Destillation hierauf nach Zusatz der üblichen Menge konzentrierter Schwefelsäure fort[1]), so bemerkt man bald das Uebergehen des schon in der Einleitung erwähnten gelben Oels. Diesem Körper kommen jodbindende Eigenschaften zu, und muss seine Anwesenheit bei der Titration der Phenole sicher ausgeschlossen sein.

Der Wert einer Kohlensäureverwendung bei der Rektifikation des Destillates über Kalk ergibt sich aus folgenden zwei Versuchen:

Aus 250 gr Menschenharn wurden die Phenole mit Schwefelsäure abdestilliert und das Übergegangene über kohlensaurem Kalk *ohne* Durchleiten eines Kohlesäurestromes solange destilliert, bis eine Probe des Destillates mit Millons Reagens nicht mehr reagierte. Es wurden hiebei 0,01 gr. Phenol gefunden. Hierauf wurde das kalkhaltige Gemisch unter Einleiten von Kohlensäure weiter destilliert, wobei noch 0,0028 gr Phenol = 21,87 % der gesamten Phenolmenge erhalten wurden.

Derselbe Versuch wurde mit 250 gr. frischen Kuhharns wiederholt und dabei ohne Kohlensäure 0,134 gr. = 78,1 % und mit nachfolgender Kohlensäureverwendung noch 0,0376 gr. 21,9 % des gesamten p-Kresols erhalten.

Diese beiden Versuche bestätigen deutlich die im Früheren angeführte Notwendigkeit der Verwendung eines Kohlensäurestromes.

Die im Vorstehenden mitgeteilten Ergebnisse berechtigen uns somit zur Abänderung des Verfahrens von *Kossler* u. *Penny*

[1]) Auf die Konzentration beim Eindampfen wurde entsprechend Rücksicht genommen.

für die quantitative Bestimmung der Phenole im Harn und machen auch die von *Neuberg* vorgeschlagene Verbesserung der Methode zur Untersuchung von Diabetesharn überflüssig.

Auf Grund unserer Erfahrung schlagen wir vor, zur quantitativen Bestimmung der Phenole im Harn inskünftig wie folgt zu verfahren:

Eine abgewogene, schwach alkalisch gemachte Harnmenge (250—500 gr) wird auf dem Wasserbad auf ca. 1/5 eingedampft, in den Destillationskolben gespült und dieser mit dem Kühler verbunden. Durch den Hahntrichter lässt man unter zeitweiligem Umschütteln nun so viel sirupöse Phosphorsäure langsam zufliessen, dass deren Menge ca. 5% des ursprünglichen Harnvolumens ausmacht. Unter guter Kühlung wird alsdann bis auf ca. 100 ccm abdestilliert und die Destillation nach jeweiligem Nachfüllen von 50 ccm Wasser so lange wiederholt, bis die Prüfung einiger Tropfen des Destillates mit Millons Reagens negativ verläuft. Die in einem geräumigen Kolben aufgefangenen Destillate werden nach Uebersättigung mit kohlensaurem Kalk unter Einleiten eines reinen Kohlensäurestromes einer erneuten Destillation unterworfen und dieselbe wie schon angegeben wiederholt. Die übergehende Flüssigkeit wird am besten in einem Schott'schen Literkolben mit eingeschliffenem Stopfen aufgefangen und nach *Kossler-Penny* titriert. Hiebei ist zu beachten, dass infolge der, im Destillate enthaltenen Kohlensäure die Menge der zuzusetzenden Natronlauge ensprechend vermehrt werden muss.

Angewandtes.

Nachdem durch die angeführten Untersuchungen die analytischen Grundlagen der Methode zur Bestimmung der Harnphenole festgestellt waren, traten wir nun an die Lösung der eingangs gestellten Aufgaben.

Zunächst interessierte es uns, den genauen Gehalt des frischen Kuhharns an Phenolen kennen zu lernen. Zu diesem Zwecke wurde der Harn einer einmaligen Entleerung von drei Kühen gleich bei seiner Ausscheidung quantitativ aufgefangen, in einem Glasgefäss gemischt, gewogen und davon 500 gr. sofort auf dem Wasserbad bis zu ca. 100 ccm konzentriert. Alsdann wurden die Phenole nach unserem Verfahren bestimmt. Zwecks späterer Untersuchung dieser Harnmischung wurde der Rest derselben bei einer Temperatur von 19-20° in offenem Gefässe der Gärung überlassen.

Erwähnt sei noch, dass der Gesundheitszustand obiger drei Kühe ein normaler war und dass das Futter derselben, wie dasjenige der übrigen, im Stalle stehenden Tiere, aus Heu und einer kleinen Beigabe von Sesammehl bestand.

Nach Uebergang zur Sommerfütterung wurden dieselben Untersuchungen wiederholt. Die in Tabelle VII niedergelegten Resultate sind auf p-Kresol berechnet, da Phenol nur in äusserst geringen Mengen im Kuhharn enthalten ist. (Tabelle VII.)

Die in dieser Tabelle enthaltenen Angaben über den Gehalt von frischem Kuhharn an Phenolen dürften schon aus dem Grunde ein gewisses Interesse bieten, weil sie unter den spärlichen, in der Literatur vorhandenen wohl diejenigen sind, die den grössten Anspruch auf Genauigkeit erheben können. Aus ihnen ist ersichtlich, dass die Menge der Harnphenole grösser ist als bisher angenommen wurde. So bestimmte beispielsweise *Munk*[1]) nach der alten Bromethode den prozentischen Gehalt von Kuh harn zu 1-4 mgr. Phenol, während nach unseren Untersuchungen

[1]) Maly's Ber. X, 288 (1880) a. Archiv f. Anat. u. Physiol. Supp. Bd. z. phys. Abt. 22.

bei Winterfütterung Kuhharn 0,063 gr. und bei Sommerfütterung 0,0377 gr. pro 100 gr im Mittel enthält. Auf die Tagesmenge, die wir zu 20 Liter annahmen, berechnet sich somit die Ausscheidung an Phenolen auf 12,6 gr. bei Winterfütterung und auf 7,54 gr. bei Sommerfütterung.

Bei seinen Untersuchungen von Kuhharn findet *Munk*[1]) ein „konstantes bedeutendes Ueberwiegen der gebundenen Schwefelsäure über die präformierte“ (im Mittel um das 2,5 fache) und glaubt, da die Menge der gebundenen Schwefelsäure mit ihrem fünften bis achten Teil zur Bindung der Phenole ausreicht, und der Indicangehalt sehr gering ist, dass an der Bindung der Schwefelsäure noch ein anderer Körper beteiligt sein müsse. Unseres Erachtens ist diese Voraussetzung nicht notwendig und dürfte die Erklärung obiger Beobachtung vielmehr in der Unzulänglichkeit der angewandten Methode zu suchen sein.

Ueber das Vorkommen ungebundenen Phenols in frischem Harn finden sich keine Angaben vor und über das Auftreten von freien Phenolen nach Eingabe von Phenol sind die Angaben nach *Heffter*[2]) streitig. Die zahlreichen, von uns in dieser Richtung untersuchten frischen Menschen- und Tierharne waren stets frei von ungebundenen Phenolen.

Durch die Gärung ändert sich sowohl der Gehalt an Phenolen, als auch ihre Bindungsform. So fanden wir neben einer bedeutenden Zunahme der Gesamtphenole im vergorenen Harn stets erhebliche Mengen freien Phenols; im Mittel waren in 1000 gr. vergorenen Winter-Harns nach 4-wöchiger Aufbewahrung 0,200 gr. und nach achtwöchiger Lagerung 0,218 gr. freie Phenole enthalten. In den während der Sommerfütterung erhaltenen Harnen war die Menge der freien Phenole nach vierwöchiger Aufbewahrung noch grösser und betrug im Mittel 0,319 gr. in 1000 gr.

Zur Bestimmung der **freien Phenole** wurde der Harn unter Durchleiten eines Kohlensäurestromes wie üblich destilliert, hierauf zur Entfernung des Ammoniaks eine Rektifikation des Destillates über Phosphorsäure vorgenommen und die neuerdings übergegangene Flüssigkeit nach Kalkzusatz im Kohlensäurestrom einer nochmaligen Destillation unterworfen. Auf die Anwesenheit von

[1]) loc. cit.

[2]) Sonderabdr. a. Ergebn. d. Physiologie IV, 242 (1905).

Aceton brauchte keinerlei Rücksicht genommen zu werden, da sich sowohl der frische als auch der vergorene Harn nach der Untersuchung als frei von solchem erwiesen hatte.

Untersucht man das Verhältnis der freien zu den gebundenen Phenolen, so lässt sich weder bei den Harnen mit kürzerer, noch bei denjenigen mit längerer Aufbewahrungszeit eine Beziehung herausfinden. Bei gleich hohem Gehalt an gebundenen Phenolen schwankt die Menge der freien Phenole innerhalb weiter Grenzen.

In drei Fällen (Morgenharne v. 16. u. 22. I., Nachmittagsharn v. 23. I.) hat der Gehalt an **gebundenen Phenolen** nach vierwöchiger Aufbewahrung eine Zunahme erfahren und zwar ist diese Vermehrung beim Morgenharn vom 16. I. eine ganz beträchtliche. In gleicher Weise, wenn auch weniger hervortretend, sehen wir nach achtwöchiger Lagerung die Menge der gebundenen Phenole in den Morgenharnen vom 22. und 25. Jan. vermehrt. Dieser höchst auffälligen Erscheinung kann kein Analysenfehler zu Grunde liegen, da wir uns durch mehrfache Bestimmungen von der Richtigkeit der erhaltenen Resultate überzeugten. *Wir sehen vorläufig davon ab, für diese merkwürdige und unseres Wissens bisher noch nicht beobachtete Tatsache einer Bildung von gebundenen Phenolen ausserhalb des Tierkörpers eine Erklärung zu suchen.*

Eine Vermehrung von Phenol, resp. Kresol in gefaultem Harn soll nach einer Angabe von *Salkowski*[1]) bereits von Baumann konstatiert worden sein und nach dem letzteren von einer Spaltung der Oxysäuren und Aetherschwefelsäuren herrühren. Ob es sich hiebei um eine Vermehrung der freien, oder der gebundenen Harnphenole handelt, geht aus der gen. Angabe nicht hervor und eine diesbezügliche Arbeit *Baumanns* konnten wir nicht auffinden.

Besonders hervorzuheben ist das Verhalten des Nachmittagsharns vom 17. I. Von allen untersuchten Harnen der Winterfütterung ist er der einzige, welcher nach 8-wöchiger Aufbewahrung *eine Abnahme der Gesamtphenolmenge* aufweist. Im Gegensatz zu den übrigen Harnen hat die Menge seiner gebundenen Phenole schon nach 4 Wochen eine Verminderung erfahren. Zu Beginn der Untersuchung enthielt dieser Urin in 1000 gr. 0,5586 gr.

[1]) Ztschr. physiolog. Chem. XIII, 274 (1889)

p-Kresol, nach vier Wochen war diese Menge auf 0,4468 gr gesunken, nach sechs Wochen auf 01406 gr. und nach acht Wochen fanden sich blos noch 0,0246 gr. gebundenes Kresol vor. Die freien Phenole erfuhren in derselben Zeit keine entsprechende Steigerung. Dass ein derartiges Verschwinden der Phenole nicht auf Verdunstung zurückzuführen ist, geht aus dem Verhalten der übrigen Harne, die unter den nämlichen Bedingungen standen, deutlich hervor. Wir vermuten vielmehr, dass die Ursache dieses Verlustes in vitalen Prozessen zu suchen ist. Noch deutlicher zeigen diese Erscheinung die Mehrzahl der bei Sommerfütterung untersuchten Harne, indem schon nach vierwöchiger Lagerung ein in gen. Richtung eingetretener Verlust zu konstatieren ist. Wir hoffen später nach weiteren Untersuchungen auf diese Erscheinung zurückzukommen.

Da sowohl *Kossler* und *Penny*[1]) als auch *Neuberg*[2]) nach ihren Methoden frühere Angaben über den Phenolgehalt des Menschenharns nachgeprüft haben und dabei in Bezug auf das in der Tagesmenge abgeschiedene Phenolquantum zu stark abweichenden Werten gelangt sind, bot es Interesse, unsere Untersuchungen auch auf Menschenharn auszudehnen.

Zu diesem Zwecke wurde der in 24 Stunden gelassene Harn normaler Individuen bei gemischter Kost gesammelt und sofort verarbeitet. Im weitern gelangte noch der Harn eines 20 Monate alten Kindes, sowie derjenige eines Vegetarianers zur Untersuchung. (Tabelle VIII.)

Die von uns gefundenen Zahlen nähern sich den von *Neuberg* und *Munk* angeführten Werten (0,03 gr in der Tagesmenge). Nach ihren Untersuchungen glauben *Kossler* und *Penny,* dass der Gehalt des Harnes normaler Individuen an Phenolen bei gemischter Kost beträchtlich grösser sein könne, als gewöhnlich angenommen werde und führen aufgefundene Mengen von 0,081 und 0,122 gr. p-Kresol als Tagesmenge an. Nach unseren, im Vorausgegangenen mitgeteilten Erfahrungen, betreffend die der bisherigen Phenolbestimmungsmethode anhaftenden Fehler, erachten wir uns für berechtigt, die Richtigkeit dieser Zahlen in Zweifel zu ziehen.

[1]) loc. cit.
[2]) loc. cit.

Zu besonderen Bemerkungen bietet der Harn des Vegetarianers Veranlassung. Da die Jodverbindungen des Phenols und p-Kresols verschiedene Färbung aufweisen, gelangt man bei einiger Uebung dahin, zu unterscheiden, ob reine Lösungen des einen oder andern der Phenole, oder Gemische beider vorliegen; auch ein starkes Ueberwiegen von Phenol oder p-Kresol kann mit ziemlicher Sicherheit abgeschätzt werden. Während nun bei allen von uns untersuchten Menschenharnen — mit Ausnahme des Vegetarianerharns — in Uebereinstimmung mit der allgemeinen Annahme Kresol die Hauptmenge der Phenole ausmacht, enthielt der Harn des Vegetarianers sozusagen nur Phenol, eine Beobachtung, die auch von *Neubauer* und *Vogel*[1]) erwähnt wird.

---

[1]) loc. cit. S. 148.

Harn-Benzoesäure.

Ueber die Methoden zur Bestimmung der Benzoësäure im Harn finden sich in der einschlägigen Literatur relativ wenige Angaben vor. Wohl den meisten ausgeführten Bestimmungen liegt das, ursprünglich zur Bestimmung der Hippursäure dienende Verfahren von *Bunge* und *Schmiedeberg*[1]) zu Grunde. Eine Modifikation desselben haben *Jaarsveld* und *Stokvis*[2]) angegeben. Auch *Völker*[3]) hat ein Verfahren ausgearbeitet, das zur Bestimmung der Benzoesäure dienen kann. *Pfeiffer* und seine Mitarbeiter[4]) bestimmen die Hippursäure durch die aus ihr erhaltene Benzoesäure; auch diese Methode kann zur Bestimmung der letzteren verwendet werden.

Da es sich für unsere Zwecke nur darum handelte, den Benzoesäuregehalt von vergorenem Harn, d. h. einer Flüssigkeit, die keine Hippursäure mehr enthält, zu bestimmen, versuchten wir, die Benzoesäure auf möglichst einfache Weise quantitativ aus dem Harn zu isolieren.

Nach einigen Vorversuchen mit verschiedenen Lösungsmitteln verblieben wir bei der Anwendung von nicht über 40° siedendem Petroläther. Vermittelst desselben lässt sich aus vergorenem und mit Schwefelsäure übersättigtem Harn die Benzoesäure quantitativ extrahieren.

Zum Ausziehen benützten wir mit grossemErfolg den von *Katz* konstruierten Extraktionsapparat für Flüssigkeiten mit Flachglasspirale, den wir uns in passender Grösse und mit angeschliffenem Kölbchen von der Firma *Huggershoff* in Leipzig herstellen liessen. Es empfiehlt sich, die Uebersättigung des Harns mit Schwefelsäure wegen der massenhaft vorhandenen Carbonate vor dem Einfüllen

[1]) Arch f- exp. Pathol. u. Pharm. VII, 235 (1877).

[2]) Arch. f. exp. Pathol. u. Pharm. X, 271 (1897).

[3]) Malys Jahresber. 1887, 215.

[4]) Mitt. d. landw. Inst. d. Univers. Breslau. Bd. II, 273 und *Rieke*, Ueber die Bildung der Hippursäure im tierischen Organismus, Inauguraldiss, Breslau 1903.

in den Extraktionsapparat vorzunehmen. Nach 4-5 Stunden ist die vorhandene Benzoesäure quantitativ ausgezogen. Die ätherische Lösung derselben wird hierauf nach Aufsetzen eines Aetherdampfhebers bei gelinder Wärme verdunstet und der schön kristallisierte, beinahe farblose Rückstand nach Auflösen in möglichst wenig schwach alkoholhaltigem Wasser unter Verwendung von gereinigtem Lakmusfarbstoff als Indikator mit $^1/_{10}$-Normal-Natronlauge oder Ammoniak titriert. Die an den Rändern des Verdampfungsrückstandes auftretende, leicht gelblichbraune Färbung rührt von mitausgezogenen Phenolen her. Wie wir uns durch Versuche überzeugten, übt jedoch die Anwesenheit selbst grösserer Mengen von Phenol oder Kresol auf die Titration keinen Einfluss aus. Für die Erkennung des Farbenumschlages empfiehlt es sich, zuvor einige Titrationen mit bekannten Mengen reiner Benzoesäure auszuführen.

Den Gehalt von vergorenem Kuhharn betimmten wir nach dieser Methode zu 8,93 g Benzoesäure im Kg., denjenigen von Gülle, d. h. eines von 17 Kühen unter gewöhnlichen Verhältnissen (ohne Wasserverwendung im Stalle) gewonnenen und vergorenen Mischharns zu 8,54 g im Liter.

Aus diesen Zahlen geht deutlich hervor, dass die bei der Düngung mit Gülle in Form von benzoesaurem Salz auf das Land gebrachten Mengen Benzoesäure bedeutende sein müssen. Nehmen wir nach hiesigen Verhältnissen eine starke Gülle-Düngung zu 1000 hl pro ha an, so berechnet sich die damit ausgebrachte Benzoesäuremenge auf 800-900 kg Benzoesäure pro ha. In Wirklichkeit wird man nicht immer mit so grossen Quantitäten Benzoesäure zu rechnen haben, da die Gülle zumeist in, mit Wasser verdünntem Zustande ausgetan wird. Immerhin darf mit einer Menge von 400-500 kg. Benzoesäure pro ha gerechnet werden. Zieht man des weiteren in Betracht, dass nach unsern Untersuchungen vergorener Kuhharn pro kg. 0,34 bis 0,83 g Gesamt-Phenole aufwies, was unter Annahme obiger Düngung 34—83 kg. Gesamt-Phenole ausmacht, so erscheint die eingangs ausgesprochene Ansicht über den Einfluss dieser Körper auf die Bodenbakterien und das Pflanzenwachstum sicherlich begründet.

Tabelle I.

Die Phenole in Wasser gelöst und die Lösung ohne Weiteres nach **Kossler-Penny** titriert.

Versuchsnummer	Verwendet		Gefunden		Zurückerhalten	
	Phenol g.	p-Kresol g	Phenol g-	p-Kresol g.	Phenol %	p-Kresol %
1.	0,0204		0,0205		100,49	
2.	0,1412		0,1414		100,14	
3.	0,1600		0,1604		100,25	
4.		0,0143		0,0142		99,40
5.		0,0511		0,0517		101,00
6.		0,0597		0,0598		100,20
7.		0,0729		0,0733		100,50

Tabelle II.

Die Phenole in Wasser gelöst, die Lösung destilliert und das Destillat nach **Kossler-Penny** titriert.

Versuchsnummer	Verwendet		Gefunden		Zurückerhalten	
	Phenol g.	p-Kresol g.	Phenol g.	p-Kresol g	Phenol %	p-Kresol %
8.	0.0445		0,0448		100,74	
9.	0,1098		0,1097		99,99	
10.	0,2787		0,2791		100,14	
11.		0,0542		0,0541		99,3
12.		0,0865		0,0870		100,5
13.		0.4000		0,3997		99,9

Tabelle III.

Phenollösungen mit Schwefelsäure destilliert und die Destillate nach **Kossler-Penny** titriert.

Versuchsnummer	Verwendet		Gefunden		Zurückerhalten	
	Phenol g.	p-Kresol g.	Phenol g.	p-Kresol g.	Phenol %	p-Kresol %
14.	0,0363		0,03635		100,15	
15.	0,0734		0,0744		101,40	
16.	0,1272		0,1261		99,17	
17.		0,0653		0,0461		70,50
18.		0,0855		0,0670		78,40
19.		0,2486		0,2205		88,70
20.		0,2742		0,2449		89,30

Tabelle IV.

Phenollösungen mit Phosphorsäure destilliert und die Destillate nach **Kossler-Penny** titriert.

Versuchsnummer	Verwendet		Gefunden		Zurückerhalten	
	Phenol g.	p-Kresol g.	Phenol g.	p-Kresol g.	Phenol %	p-Kresol %
21.	0,0162		0,01622		100,0	
22.	0,0479		0,0486		101,5	
23.	0,0823		0,0817		99,5	
24.		0,0219		0,0223		102,1
25.		0,0320		0,0328		102,4
26.		0,0345		0,0349		101,3
27.		0,1215		0,0120		98,8

Tabelle V.

Phenollösungen über Calciumcarbonat destilliert und die Destillate nach **Kossler-Penny** titriert.

Versuchsnummer	Verwendet		Gefunden		Zurückerhalten	
	Phenol g.	p-Kresol g.	Phenol g.	p-Kresol g.	Phenol %	p-Kresol %
28.	0, 0311		0, 0240		77, 07	
29.	0, 0420		0, 0421		100, 20	
30.	0, 0608		0, 0608		100, 00	
31.	0, 1257		0, 1263		100, 48	
32.	0, 2254		0, 2126		94, 32	
33.	0, 4585		0, 3827		83, 47	
34.		0, 0379		0, 0358		94, 46
35.		0, 1374		0, 1243		90, 47
36.		0, 1594		0, 1415		88, 78
37.		0, 1610		0, 1477		91, 74

Tabelle VI.

Phenollösungen unter gleichzeitigem Durchleiten von Kohlensäure über Calciumcarbonat destilliert und die Destillate nach **Kossler-Penny** titriert.

Versuchsnummer	Verwendet		Gefunden		Zurückerhalten	
	Phenol g.	p-Kresol g.	Phenol g.	p-Kresol g.	Phenol %	p-Kresol %
38.	0,0307		0,0307		100,00	
39.	0,2748		0,2753		100,18	
40.	0,4038		0,4037		99,96	
41.		0,0246		0,0248		100,90
42.		0,0382		0,0382		100,00
43.		0,0947		0,0941		99,4
44.		0,1145		0,1148		100,3
45.		0,1423		0,1422		99,97
46.		0,1663		0,1667		100,3

Tabelle VII.

Gehalt von Kuhharn an Phenolen, berechnet auf Parakresol.

Bezeichnung	1000 Gramm Kuhharn enthalten!								
	In frischem Zustande p-Kresol			Nach 4-wöchiger Lagerung p-Kresol			Nach 8-wöchiger Lagerung p-Kresol		
	frei g.	gebunden g.	total g	frei g	gebunden g.	total g.	frei g.	gebunden g	total g.
Winterfütterung									
Morgenharn									
16. I. 06.	-	0,5520	—	0,1384	1,0290	1,1674	0,0960	0,8950	0,9910
17. I. 06.	—	0,7236	—	0,1752	0,6718	0.8470	0,1398	0,6176	0,7574
22. I. 06.	—	0,7720	—	0,1852	0,8180	1,0032	0,1948	0,9336	1,1284
25. I. 06.	—	0,7044	—	0,2608	0,6976	0,9584	0,2652	0,7653	1,0305
Nachmittagsharn									
17. I. 06.	—	0,5586	—	0,3352	0,4468	0,7820	0,4360	0,0246	0,4606
19 I. 06.	—	0,5052	–	0,1917	0,4649	0,6566	0,2402	0,4108	0,6510
23. I. 06.	—	0,5940	—	0,1124	0,6380	0,7504	0,1518	0,6356	0,7874
Sommerfütterung									
Morgenharn									
28. V. 06.	—	0,3596	—	0,3554	0,0124	0,3678	0,2696	0,0936	0,3632
29. V. 06.	—	0,3816	—	0,3576	0,0268	0,3844	0,2744	0,0144	0,2888
30. V. 06.	—	0,4612	—	0,4524	0,0108	0,4632	0,4024	0,0115	0,4139
31. V. 06.	—	0,6204	-	0,5040	0,0440	0,5480	0,5413	0,0249	0,5662
Nachmittagsharn									
31. V. 06.	-	0,3356	—	0,2494	0,0024	0,2218	0,2177	0,0375	0,2552
1. VI. 06	—	0,2860	—	0,1856	0,0101	0,1975	0,1680	0,0101	0,1781
5. VI. 06.	—	0,2544	—	0,1996	0,0135	0,2131	0,1752	0,0267	0,2019
6. VI. 06.	—	0,3176	—	0,2480	0,0072	0,2552	0,0966	0,0173	0,1139

Tabelle VIII.

Gehalt von Menschenharn an Phenolen.

Herkunft des Harnes	Datum	Tagesmenge g.	In der Tagesmenge sind enthalten p-Kresol g	In der Tagesmenge sind enthalten Phenol g.
18jähriger Mann	2. II. 06	1670	0,0534	
31jähriger Mann	2. II. 06	3010	0,0392	
31jähriger Mann	5. II. 06	2980	0,0487	
35jähriger Mann	21. II. 06	1050	0,0360	
20 Monate altes Kind	2. II. 06	575	0,0102	
20 Monate altes Kind	5. II. 06	835	0,0107	
28jähriger Mann (Vegetarianer)	2. II. 06	1250	0,0280	0,0248
„ „	5. II. 06	910	0,0365	0,0317
„ „	23. II. 06	1065	0,0340	0,0309

Einfluss der Benzoesäure und der Harnphenole auf die Nitrifikationsvorgänge.

I. Benzoesäure.

a) Laboratoriumsversuche.

Um nun einen möglichen Einfluss der, als antiseptisch wirkend angesehenen, Benzoesäure auf einen der wichtigsten Prozesse der Pflanzenernährung — die Nitrifikation — festzustellen, unternahmen wir vorerst eine Reihe von Versuchen ohne Verwendung von Pflanzen. Bekanntlich herrscht heute noch die Theorie, dass besondere Bodenbakterien die Fähigkeit besitzen, den Stickstoff den Pflanzen durch Oxydation zugänglich zu machen. Wie wir in einer früheren Arbeit[1]) ausgeführt haben, kann diese Umwandlung durch Bestimmung der Salpetersäure mit grosser Genauigkeit nachgewiesen werden, besonders, wenn man Sorge trägt, kalkhaltigen[2]) Boden zu verwenden, da in demselben die Nitrifikation rascher und vollständiger vor sich gehen kann. Zur Beantwortung der Frage:

Ist die Gegenwart von benzoesauren Salzen von Einfluss auf die Nitrifikation des Ammonstickstoffes? gingen wir von folgender Ueberlegung aus:

Werden von der gleichen, kalkreichen Erde, in welcher die Nitrifikation des Ammonsulfates unter normalen Verhältnissen sehr energisch stattfindet, gleiche Mengen unter denselben Versuchsbedingungen einerseits ohne Zusatz von benzoesauren Salzen, andrerseits unter Beigabe von solchen mit ein und derselben Dosis Ammonsulfat vermischt, alsdann in die, zur Entwicklung der Nitrifikation günstigsten Verhältnisse gesetzt, so muss bei schädlicher Wirkung der Benzoesäure die Menge der

[1]) Landw. Jahrb. d. Schweiz XVIII., 19 (1904)
[2]) Journal für Landw. L III 61 (1905).

gebildeten Salpetersäure in den mit benzoesauren Salzen versetzten Portionen geringer sein als in der ohne diesen Zusatz gebliebenen Erdmenge.

Ausführung des Versuchs.

Als Versuchserde verwendeten wir eine Probe von Münsingen, herstammend aus einer Wiese und mit dem Gehalt von 4,93 % $CaCO_3$, in der Trockensubstanz. In Anlehnung an praktische Verhältnisse wurde die zu verabreichende Menge Benzoesäure durch folgende Ueberlegung festgesetzt:

Nach unsern Erfahrungen über den sich im Ackerboden abspielenden Nitrifikationsprozess ist die vorteilhafteste Dosis Stickstoff für die von uns angewandte Erdmenge 0,1 g. N. Dieser N-Gehalt findet sich in ca. 25 cc gegärten Kuhharns (Gülle), welche Flüssigkeitsmenge anderseits rund 0,2 g Benzoesäure enthält. Diese Gabe von 0,2 g Benzoesäure wurde einfach und doppelt dem Versuchsboden beigemischt. Zu diesem Zwecke wurden 250 g Erde mit 0,1 g N in Form von schwefelsaurem Ammoniak mit den entspr. Mengen von benzoesauren Salzen (s. Tabelle) vermischt, mit 50 cc Wasser begossen, mit weiteren 50 g Erde bedeckt und im Dunkeln stehen gelassen. Das verdunstete Wasser wurde von Zeit zu Zeit ersetzt. Nach Verlauf von 30 Tagen wurde der entstandene Salpeterstickstoff nach Schlöesing bestimmt.[1])

Versuchs No.	N-Düngung p. Gef.		Benzoesäure-Zusatz		Gef. No.	Nach 30 T. gefunden
	Form	g	Form	g		
I.	Am. sulfat	0,1	——	—	73.74	0,10171 g
II.	„	0,1	Nat.-benz.	0,272	75.76	0,09504 g
III.	„	0,1	Nat.-benz.	0,544	77.78	0,08973 g
IV.	„	0,1	Kali-benz.	0,360	79.80	0,09072 g
V.	„	0,1	Kali-benz.	0,720	81.82	0,07543 g
VI.	„	0,1	Calc-benz.	0,382	83.84	0,07189 g
VII	„	0,1	Calc-benz.	0,564	85.86	0,07723 g

Beginn des Versuches 24. August.
Temperatur des Aufbewahrungsortes 29° C.

[1]) Zeitschr. f. anal. Ch. Jahrg. XXXXII, 205 (1903) Liechti und Ritter „Ueber die Anwendbarkeit der Schoesing-Methode.

Besprechung der erhaltenen Resultate.

Wie aus den obigen Ergebnissen zu ersehen ist, zeigen nur die Gefässe 93 und 84 bezw. 85 und 86 einen ausgesprochenen Einfluss des Benzoesäure-Zusatzes. Berücksichtigt man aber, dass in den übrigen Gefässen die an die Benzoesäure gebundene Base in den chemischen und biologischen Prozessen des Bodens ebenfalls eine Rolle spielen musste, so erscheinen auch die Resultate der Gefässe 75-80 in einem andern Lichte. Wie *Böttcher*[1]) nachgewiesen, kommt den Alkalien eine grössere Bedeutung zu in Bezug auf die Förderung des Pflanzenwachstums, als früher angenommen wurde. Dies scheint uns hier auch bei Betrachtung des Verlaufs der Nitrifikation zuzutreffen. Vergleicht man nämlich die Ergebnisse der Gefässe 75-80 einerseits mit denjenigen von 73 und 74, andrerseits mit den Resultaten aus 83-86, so konstatiert man anscheinend keine Wirkung der an Alkali gebundenen Benzoesäure im Vergleich zu den benzoesäure-freien Kontrollgefässen. In der mit Calcium-benzoat angesetzten Versuchsreihe aber ist eine deutliche Depression des gebildeten Nitratstickstoffs bemerkbar. Der einzige Unterschied zwischen den Reihen 75-80 und 83-86 aber ist die Art des Salzes der Benzoesäure, die in den leztern Gefässen an Calcium gebunden ist, d. h. an diejenige Base, welche schon in Form von kohlensaurem Salz reichlich im Boden vertreten ist und deren weiterer Zusatz deshalb auf die Nitrifikation keinen Einfluss mehr ausüben kann. Da — wie bei Anlegen des Versuches berücksichtigt, — der Kalkgehalt alle Bakterientätigkeit des Bodens erhöht,[2]) gleichwohl aber in diesen Gefässen die Nitrifikation sich schwächer entwickelte, so kann diese Hemmung nur der Wirkung der Benzoesäure zugeschrieben werden. Umgekehrt aber muss nun dort, wo dieser Einfluss der Benzoesäure auf die Nitratbildner nicht konstatiert werden konnte — also in den Gefässen 75—80 — die Wirkung des Alkalis den schädlichen Einfluss der Benzoesäure ausgeglichen haben. Als Schlussfolgerung unserer Versuche ergiebt sich hiemit, dass die Benzoesäure einen hemmenden Einfluss auf die Nitrifikation im Erdboden ausübt und dass andrer-

[1]) Journal f. Landw. LIV. 40 [1906]
[2]) Journal f. Landw. LIII 66 [1905]

seits die Anwesenheit der Alkalien in nicht allzugrosser Menge die dadurch verursachte Depression zu kompensieren vermag.

Die Bedeutung der Grösse des Alkaligehalts ergibt sich aus einem Vergleich der Resultate von 79 und 80 mit 81 und 82, wo die Verdoppelung des Benzoesäuregehalts einer solchen Vermehrung des Kali rief, dass dessen Menge keinen fördernden Einfluss auf die Nitrifikation mehr ausübte und die Hemmung derselben durch die Benzoesäure nicht mehr zu verschleiern vermochte.

Der Unterschied in der Wirkungsweise von Kali und Natrium endlich ergibt sich bei Vergleich der Resultate 81, 82 mit 77, 78, in welch' letztern Gefässen bei gleicher Menge Benzoesäure die eben besprochene Abnahme noch nicht zu beobachten ist.

Vor dem Versuch, die angeführten Resultate auf das praktische Gebiet der Pflanzenphysiologie zu übertragen, scheint es uns notwendig, darauf hinzuweisen, dass Laboratoriumsversuche infolge der Art ihrer Ausführung nur unter Berücksichtigung dieser besondern Bedingungen in ihren Schlüssen auch praktische Winke enthalten. So ist besonders der Verlauf der Nitrifikation im Glasgefäss und im Dunkel des warmen Brutschranks ein ganz andrer als im Ackerboden, andrerseits ist auch die Menge der gebildeten Salpetersäure bei gasanalytischer Bestimmung das empfindlichste Reagens für die Beurteilung dieses biologischen Prozesses. Wenn also auch die absoluten Zahlen der erhaltenen Unterschiede bei unsern Untersuchungen kleine sind, so gibt ihr Verhältnis zu einander gleichwohl ein sicheres, ungetrübtes Bild der Wirkung der Benzoesäure auf die Nitrifikationsbakterien. Dieses Ergebnis hat aber vorerst nur theoretischen Wert, und kann keineswegs als Grundlage zu Folgerungen für das Gedeihen der Nutzpflanzen auf benzoesäurehaltigem Boden (Gülle-Düngung) verwendet werden. Zur Begründung dieser Ansicht möchten wir bloss darauf hinweisen, dass die Auffassung des Nitrifikationsvorganges in jüngster Zeit eine Aenderung erfährt, dass somit möglicherweise selbst der einwandsfreie und genau festgestellte Verlauf desselben keineswegs als direkter Gradmesser des Pflanzenwachstums anzusehen ist.

Liessen also die vorstehend angegebenen Versuchsresultate auch auf eine Beeinflussung der Nitrifikation durch die Gegenwart von Benzoesäure schliessen und stellte man andrerseits die

Berechtigung der eben angeführten Ueberlegungen auch ausser Zweifel, so war aber noch keineswegs a priori anzunehmen, dass eine Einwirkung der benzoesauren Salze auf das Pflanzenwachstum völlig ausgeschlossen sei. Um darum noch in dieser Hinsicht zu einer klaren Erkenntnis zu gelangen, gingen wir nun an die Ausführung der nachstehenenden Versuche.

b) Vegetationsversuche.

Uns möglichst an die Bedingungen der Praxis haltend, berechneten wir die nach unsern Bestimmungen im gegärten Kuhharn vorhandene Menge Benzoesäure auf ca. 8 g. pro Liter. Unter Berücksichtigung der meist üblichen Verdünnung durch Wasser setzten wir den Duchschnitt der ausgebrachten Benzoesäuremenge auf rund 400 kg. pro ha, was auf die von uns verwendeten Gefässe eine Mindestgabe von 1,0 g. Benzoesäure ausmacht.

Zur Lösung der Frage: *Wird durch die Gegenwart von benzoesaurem Kali Wachstum und Ernteertrag der Pflanzen beeinflusst?* leiteten uns folgende Betrachtungen:

Werden gleiche Portionen derselben Erde mit einer, zur Erreichung der Maximalernte erforderlichen Menge der üblich angewandten Nährstoffe vermischt, mit dem gleichen Quantum Samen bestreut, die eingefüllten Gefässe unter denselben Bedingungen gehalten, so müssen Wachstum und Ernteertrag derjenigen Gefässe leiden, in welchen ausserdem noch ein Zusatz von benzoesauren Salzen stattfand — sofern die Gegenwart derselben schädlich ist.

Vorausgesetzt wurde, dass die Benzoesäure im Harn sich als benzoesaures Kali vorfindet und deshalb dieses Salz zu den vorliegenden Versuchen verwendet, indem wir es als Kopfdüngung in gelöster Form zur Anwendung brachten. Um schliesslich die gestellte Frage mit Sicherheit entscheiden zu können, war es angezeigt, die Wirkung des benzoesauren Salzes nicht blos bei Volldüngung, sondern auch bei herrschendem Nährstoffmangel — im Hungerzustand der betr. Pflanzen — zu prüfen. Zu diesem Zwecke wurden zwei weitere Versuchsreihen angesetzt, in welchen abwechselnd — Kali selbstredend ausgenommen — einer der übrigen Hauptnährstoffe sich im Minimum befand, so zwar, dass die Phosphorsäure nur von der im Boden enthaltenen Menge entnommen werden konnte, der Stickstoff aber nur in, zur Sicher-

stellung der Entwicklung unumgänglich notwendiger Menge gegeben wurde. Versuchserde war eine Bodenprobe von Liebefeld die sehr phosphorsäurearm ist; als Versuchspflanzen wählten wir Weissklee und Goldhafer.

Ausführung der Versuche.

Bei Volldüngung wurde zur Zeit der Einsaat gegeben pro Gefäss 20 20 cm 2,0 g. P_2O_5 als Wolthersphosphat-Feinmehl (11,8 g.)

0,5 g K_2O als Kalisulfat (0,962 g).

0,5 g N als Ammonnitrat (1,431 g).

Die ohne Phosphorsäuregabe bleibenden Gefässe erhielten bei der Einsaat: 0,5 g K_2O als Kalisulfat und 0,5 g. N als Ammonnitrat. Den zu Stickstoffarmut bestimmten Gefässen endlich wurden gegeben: 2,0 g P_2O_5 als Woltersphosphat, 0.5 g K_2O als Kalisulfat und 0,25 g N als Ammonnitrat.

Die Benzoesäure wurde in steigenden Mengen zugesetzt und zwar blieben in jeder Versuchsreihe drei Parallelgefässe ohne Benzoesäure, drei weitere erhielten davon eine Dosis von 1,0 g. entsprechend 1,311 g. Kaliumbenzoat, die folgenden drei Parallelgefässe 2 g 2,622 g benzoesaures Kalium und die letzten drei Gefässe jeder Reihe 3 g 3,933 g. Kaliumbenzoat. Erst am 21. Juni waren die Pflanzen genügend entwickelt, um diese Salzmengen empfangen zu können. Dieselben wurden in Form einer Lösung verabreicht, zu welchem Zweck 160 g. benzoesaures Kalium in 2000 cc Wasser gelöst wurden. Laut Bestimmung entprechen 16,4 cc dieser Lösung 1,311 g. benzoesaurem Kalium. Die betr. Anzahl cc wurde jeweils auf 200 cc mit Wasser verdünnt und erst so den Pflanzen verabreicht. Zur Berücksichtigung dieser Verdünnung führte uns ein im Vorjahre verunglückter gleichartiger Versuch, bei welchem diese Vorsicht nicht beobachtet worden war. Selbstverständlich wurden die mit benzoesaurem Salz gleichzeitig eingeführten Kalimengen bei den nicht damit versetzten Kontrollgefässen durch Kalimehrgaben ausgeglichen.

Resultate der Ernteerträge.

Siehe Tabelle I-VI, Seite 68 u. f. f.

Besprechung der erhaltenen Ernteerträge.

Bevor wir auf dieselbe eintreten, mögen mit wenigen Worten einige allgemeine Betrachtungen Platz finden. Wenn wir bei Anstellung der Versuche als Versuchspflanze gerade Goldhafer und Weissklee wählten, so geschah dies in der Absicht, zwei Vertreter von Pflanzentypen zu studieren, die möglichst grosse Verschiedenartigkeit in ihren Ernährungsverhältnissen mit möglichst grosser Aehnlichkeit in dem Vermögen, Störungen des Nährstoffgleichgewichts anzuzeigen aufweisen.

In Bezug auf diesen letztern Punkt haben wir uns nicht getäuscht: die allerdings geringen Depressionen sind in allen resp. Versuchsreihen (Volldüngung, Phosphorsäure- und Stickstoff-Hunger) durchwegs in annähernd denselben Verhältnissen zum Ausdruck gekommen.

Was aber die eigentlichen Unterschiede der Versuche — begründet durch die Verschiedenartigkeit in der Ernährungsweise — anbetrifft, so müssen wir gestehen, dass unsere Erwartungen nicht erfüllt wurden.

Wenn man bedenkt, dass der Weissklee das Vermögen besitzt, mit Hilfe der Knöllchenbakterien sich auch in stickstoffarmen Verhältnissen durch deren Tätigkeit vor Mangel zu schützen, so sollte doch durch den Einfluss eines Desinficiens, wie die Benzoesäure, gerade bei dieser Pflanze durch annähernde Unterdrückung der Stickstoffgabe ein weit grösserer Unterschied in dem Ernteertrag zu erzielen sein als bei Goldhafer. Nach unsern Versuchen aber beträgt die Depression in diesem Falle gegenüber der Volldüngung (jeweilen Erträge der Töpfe mit grösster Dosis von Benzoesäure verglichen mit denjenigen der benzoesäurefreien Gefässe):

Für Goldhafer bei Volldüngung	100 — 95,4	=	4,6 %
„ Weissklee „ „	100 — 91,2	=	8,8 %
Für Goldhafer bei N-Hunger	100 — 96	=	4 %
„ Weissklee „ „	100 — 88,8	=	11,2 %.

Gleichwohl zeigt die Papillionacee im Vergleich zum Goldhafer unseres Erachtens nicht die *grossen*, charakteristischen Unterschiede in ihren Wachstumserscheinungen bei gleich kümmerlichen Ernährungsbedingungen, welche wir erhofften. Dies geht aus nachstehenden Zahlen hervor: Setzen wir den Ertrag der benzoesäurefreien Gefässe jeder Versuchsreihe = 100 %, so beträgt die Ernte derjenigen Gefässe mit grösster Dosis Benzoesäure:

	Goldhafer	*Weissklee*
Bei Volldüngung:	95,4 %	91,2 %
Bei N-Hunger:	96,0 „	88,8 „
Bei Phosphorsäure-Hunger	93,0 „	84,2 „

Die alten Erfahrungen bestätigend, ruft die Unterdrückung der P_2O_5-gabe bei beiden Versuchspflanzen der grössten Einbusse an Ertrag. Die Uebereinstimmung im Verhalten von Weissklee und Goldhafer lässt die Vermutung aufkommen, dass die Ernährungsbedingungen der sog. Stickstoffsammler in Wirklichkeit doch keineswegs so grundverschieden von denjenigen der übrigen Pflanzen sein könnten, als wie die landwirtschaftliche Forschung seit den Tagen von Hellriegel und Willfarth sie darzulegen bemüht ist.

Harnphenole.

Unsere Absicht, analog vorstehenden Vegetationsversuchen mit Benzoesäure auch die Rolle der im Tierharn vorkommenden Phenole auf das Pflanzenwachstum festzustellen, scheiterte anfangs an der Schwierigkeit der Herstellung von reinem kresyl- resp. phenylschwefelsaurem Kali, in welcher Form diese Körper im Harn enthalten sind. Erst nachdem wir eine Methode der Bestimmung freier Phenole gefunden und des weitern erkannt hatten, dass dieselben fast ausschliesslich Kresole sind, (Para-Kresol) und ihre Bindungsform im Kuhharn keine stabile ist, glaubten wir uns berechtigt, an Stelle kresylschwefelsauren Salzes kurzweg freies p-Kresol verwenden zu dürfen.

Die Frage der Wirksamkeit des Parakresols auf das Pflanzenwachstum wurde unter Zugrundlegung der gleichen Ueberlegungen, wie bei den Versuchen mit Benzoesäure, auch mittels derselben Versuchsanlage, gleicher Erde und Düngung, zu beantworten versucht. In Berücksichtigung der von uns bestimmten Kresolmenge von 0,8 g pro 1000 g gegärten Harns und in der durch frühere, nachteilige Erfahrungen erlangten Erkenntnis verwenden wir 0,1 g, 0,2 g und 0,4 g Parakresol pro Gefäss gleicher Grösse wie in den Benzoesäureversuchen. Angesetzt wurden ebenfalls je drei Prarallelgefässe mit gleichen Nährstoffmengen, desgleichen die Versuchsreihen mit Stickstoff- und Phosphorsäure-Hunger beibehalten. Versuchspflanzen waren wiederum Goldhafer und Weissklee.

Was das Kresol betrifft, so wurden 20 g. reinen, über Schwefelsäure getrockneten Parakresols in 2000 cc Wasser gelöst und die den angegebenen Mengen entsprechende Anzahl cc auf 200 cc Wasser verdünnt und als Kopfdüngung verabreicht. Vergl. Tabelle VII—XII, Seite 74 und f. f.

Besprechung der Versuchsergebnisse.

Eine Tatsache können wir bei Vergleichung der erhaltenen Zahlen zum voraus sicherstellen: in keiner Weise hat das Parakresol einen ausgesprochenen antiseptischen Einfluss ausegübt. Wäre dies der Fall gewesen, so hätte vorerst der Weissklee aus den vorstehend erwähnten Gründen d. h. seine symbiotische Ernährungsweise vorausgesetzt, eine Ertragsverminderung aufweisen müssen; dieselbe wäre auch bei der grössten Kresolgabe am deutlichsten zu erkennen gewesen — statt dessen aber bleiben die Erträge bei Volldüngung und Nährstoffhunger mit und ohne Kresolgabe annähernd dieselben.

Auffallenderweise scheint der Goldhafer durch den Kresolzusatz ausgesprochener in seinem Gedeihen beeinträchtigt worden zu sein; der Minderertrag ist bei stärkerer Kresolgabe und Phosphorsäure- wie Stickstoffhunger annähernd 10 % gegenüber den kresolfreien Reihen.

Die angeführten Vegetationsversuche zeigen somit, dass der Benzoesäure ein entschieden bedeutender Einfluss auf die Entwicklung der Bakterienflora des Bodens und auf das Gedeihen der Pflanzen zugeschrieben werden muss, als dem Parakresol, die landesübliche Art der Wiesendüngung mit Gülle selbstverständlich vorausgesetzt. Zur Feststellung dieses Schlusses genügt ein Vergleich der Benzoesäure-Versuchsreihen mit denjenigen der Parakresolgaben. Dass ein solcher erlaubt ist, erhellt aus den gleichzeitigen Versuchsanlagen, bei welchen gleicher Boden, gleiche Düngung und gleiche Pflanzen Verwendung fanden, so dass sie nur durch die Natur des organischen Zusatzes sich unterschieden. Von Wichtigkeit erscheint uns besonders die durch die angeführten Versuche im allgemeinen sich aufdrängende Erkenntnis, dass die Stickstoff sammelnden Bakterien im Boden gegen Antiseptica entweder ziemlich unempfindlich sein müssen, oder dann keine so wichtige Rolle, wie ihnen bisher zugeschrieben, in bezug auf die Pflanzenernährung spielen können.

Zur Chemie des Kuhharns.

Die vorstehend angegebenen Analysen- und Versuchsergebnisse wären nicht abgeschlossen, wenn wir denselben nicht auch die Resultate von Untersuchungen beifügen würden, deren Inangriffnahme uns die Vertiefung in das Studium des Kuhharns aufdrängte. Wie früher angedeutet, beziehen sich dieselben auf die Phenole und das Oel *Städeler's*.

Betreffs der

Phenole

scheint die Frage ihres Vorkommens im Harn schon längst durch die Arbeiten *Baumanns* erschöpft zu sein; auch wir waren anfänglich dieser Meinung und erst im Verlauf der ausgeführten Arbeiten sahen wir uns veranlasst, Zweifel in die bis heute in der Physiologie geltende Annahme zu setzen, als bestände ganz allgemein der Phenolgehalt des Pflanzenfresserharns aus einem Gemisch von Phenol und Kresolen.

Hoppe-Seyler[1]) glaubt, dass ausser dem eigentlichen Phenol keine andern, mit demselben homologe Verbindungen im Pferdeharn enthalten seien, *Baumann*[2]) sieht in dieser Annahme die Ursache, warum er lange Zeit die Kresylschwefelsäure in den Salzen desselben übersehen konnte. Nachdem dieser Forscher das Vorkommen von Phenyl-[3]) und Kresylschwefelsäure[4]) im Pferdeharn durch die Elementaranalyse sichergestellt hat, findet er es notwendig, auch Städelers Angabe betr. Vorkommen von Kresolen im Kuhharn genauer zu prüfen und kommt zum Schlusse, dass das erhaltene Produkt jedenfalls nur zum kleinern Teil aus ge-

[1]) Handb. d. physiol. u. path. chem. Anat. 4. Aufl. p. 108.
[2]) Berichte d. deutsch. chem. Gesellsch. IX, 1389 (1876.)
[3]) idem IX. 54.
[4]) Pflügers Archiv XIII 285.

wöhnlichem Phenol bestand. Später gelingt es ihm, das Verhältnis der Phenole genauer zu bestimmen und er schliesst aus der Analyse ihrer Sulfosalze, dass die aus dem Pferdeharn gewonnenen Phenole zu mehr als 85 % aus p-Kresol bestanden.[1]) *Preusse*[2]) vertritt folgende Ansicht: „Wir hätten somit aus dem Pferdeharn eine Gemenge von Kresolen erhalten, welches auch bei der trockenen Destillation der Pflanzen gewonnen wird. In Betreff des Mengenverhältnisses ist noch beizufügen, dass das p-Kresol weitaus am reichsten, Orthokresol in geringer Menge und Metakresol, wie es scheint, nur in Spuren vorhanden ist".

Dies sind in Kürze angegeben, die einzigen, uns in der Literatur zugänglich gewesenen sichern und mit Analysen belegten Forschungsergebnisse über das Vorkommen von Phenolen im Harn. Der Grund, warum bis auf heute allgemein angenommen wird, *dass jeder Harn aus einem Gemisch von Phenol und Kresol* bestehe, liegt wohl in einer Verallgemeinerung *Baumann's* der schreibt (loc. cit.): „Von den unter normalen Verhältnissen im Harn von Säugetieren vorkommenden, aromatischen Schwefelsäuren habe ich bis jetzt die Phenyl- und eine Kresylschwefelsäure in ihren Kaliumsalzen darstellen können" und andernorts: „Das Mengenverhältnis, in welchem Phenyl- und Kresylschwefelsäure im Harn der Pflanzenfresser vorkommen, ist wechselnd und abhängig von der Fütterung".

Was nun den Kuhharn anbetrifft, so können wir diese Ansicht nicht gelten lassen. Schon bei unsern frühern analytischen Untersuchungen war uns das Fehlen der charakteristischen Trijodphenolfärbung stets aufgefallen. Wir nahmen uns deshalb vor — schon zur Klärung der Frage des anzuwendenden Faktors bei der Umrechnung der Titrationsresultate (Kossler-Penny) — die zur Gewinnung des hypothetischen Oels erforderlichen Mengen Kuhharn auch auf ihren Phenolgehalt zu untersuchen. Im Laufe dieser Untersuchungen wurden gegen 3000 Liter Harn, herstammend von Kühen verschiedensten Alters, unter Sommer- und Winterregime und bei verschiedenster Fütterung gesammelt und nach folgendem Verfahren verarbeitet: Der sofort nach seiner Fassung auf dem Wasserbade bis zu einem Zehntel seines Volumens eingedampfte

[1]) Z. physiol. Chem. VI 186 (1882.)
[2]) Z. physiol. Chem. II, 355 (1879.)

Kuhharn wird portionsweise zu je 500 g mit 25 cc conc. Schwefelsäure angesäuert und so lange der Destillation unterworfen, bis im letzten Destillate keine Millonreaktion mehr erzeugt werden kann. Die vereinigten Destillate werden mit kohlensaurem Kalk alkalisch gemacht und im CO_2-Strom neuerdings destilliert. Die übergegangenen Portionen werden mit Kalilauge leicht alkalisch gemacht und durch eine erstmalige Ausschüttelung mit reinstem Petrolaether im Scheidetrichter die Hauptmege des Oels daraus gewonnen. Die wässrige, alkalische, die Phenole enthaltende Flüssigkeit wird nun auf dem Wasserbade konzentriert, im Katz'schen Extraktionsapparat nochmals mit Petrolaether extrahiert und nach Entzug des Oelrestes mit verdünnter Schwefelsäure leicht übersäuert. Nach Erschöpfung mit dem gleichen Extraktionsmittel ist die früher gelbe Lösung farblos klar und reagiert nicht mehr mit Millon's Reagens gewiss ein sicheres Zeichen, dass die Phenole quantitativ ausgezogen worden sind. Nach dem Abdunsten des Petrolaethers der sauren Extraktion erhält man als Rückstand einen braunschwarzen Sirup, der alle Reaktionen des Kresols zeigt.

Die Vacuumdestillation mittelst der Wasserstrahlpumpe vollzog sich bei einer konstanten Temp. von 133—134 Grad bei 15 mm Druck und erhalten wurde ein farbloses, lichtbrechendes, dickflüssiges Oel von intensivem Kresolgeruch.

Eine Siedepunktsbestimmung nach Siwoloboff ergab 200 Grad Celsius.

Nach Vervollkommnung des Heizapparates, resp. Ersatz des offenen, durch ein mit Kupferumhüllung geschlossenes Paraffinbad erhielten wir bei 23 mm Druck und einer Siedetemperatur von 105-116 Grad sogar vier Fraktionen von gleicher, leicht gelblicher Farbe und Kresolgeruch. Die Siedepunktsbestimmungen nach Schleiermacher ergaben:

Für Fraktion 1: im Mittel 198.5 bei 760 mm.
„ „ 2 „ „ 200 „ 760 „
„ „ 3 „ „ 202 „ 760 „
„ „ 4 „ „ 203 „ 760 „

Liessen schon diese physikalischen Daten auf vollständige Abwesenheit von Phenol schliessen (aus ca. 3000 Lt.), so ergaben die Resultate der Elementaranalyse erst recht die Gewiss-

heit, dass die von uns in ihrer Gesamtheit gewonnenen Phenole ausschliesslich Kresole sein können. Es gelang uns durch plötzliche Abkühlung mit fester Kohlensäure sofort die dickflüssigen Fraktionen zum kristallisieren zu bringen. Nach Vereinigung der vier Portionen in einem Gefäss und Stehenlassen im Exsiccator erhielten wir schon bei Zimmertemperatur prächtige Kristalle.

Die Elementaranalyse ergab:

Gefunden:	Berechnet für $C_6H_4 \begin{cases} CH_3 \\ OH \end{cases}$
C=77,17 resp. 77,67 %	C=77,06 %
H= 8,33 „ 8,40 „	H= 8,26 „
O=14,50 „ 13,93 „	O=14,68 „

Die Bestimmung des Molekulargewichts mit Hülfe der Gefrierpunktserniedrigung ergab die Zahlen 121 resp. 123, die Stickstoffbestimmung nach Dumas und Kjeldahl ergab kein Resultat, während ein, im Vacuumkölbchen verbleibender Destillationsrest ziemlich stark stickstoffhaltig ist.

Da der Siedepunkt des Phenols 178.5, derjenige von Parakresol 201,8 ist, Metakresol aber bei 202,8 und die Orthoverbindung bei 190,8 siedet, dürfen wir mit Recht annehmen, dass im Kuhharn normalerweise Phenol überhaupt nicht vorkommt, derselbe also bloss Kresole enthält, deren Orthoverbindung ebenfalls zu fehlen scheint. In dieser Erkenntnis liegt auch die Begründung, warum wir bei unsern vorhergehenden Bestimmungen stets nur den Faktor für p-Kresol (1,802) in Anwendung brachten.

Das Oel Städeler's,

welches mittelst der Petrolaetherextraktion aus der alkalischen Kresollösung leicht zu gewinnen ist, wird nach mehrmaligem Dekantieren mit Wasser in 2 Portionen von 18 rep. 20 g. zur Reinigung mit 20 cc 10% Kalilauge versetzt und im Katz-Extraktionsapparat nochmals mit reinstem Petrolaether ausgezogen. Das beinahe vollständig zurückgewonnene Oel wird nun bei Kathodenlichtvacuum destilliert und in nur einer Fraktion ein klares, schwach gelbes, stark lichtbrechendes Destillat erhalten, dass bei Abkühlung in fester Kohlensäure in Nadeln kristallisiert wird. Der Destillationsrückstand ist braunschwarz, pechartig und enthält, wie der der Kresole noch einen stickstoffhaltigen Körper, der wohl die Ursache der Annahme Städeler's ist, dass das Oel stickstoffhaltig sei.

Wiederholte, von uns ausgeführte Stickstoffbestimmungen nach Dumas ergaben stets eine, innert der Fehlergrenze liegende Gasansammlung im Auffangrohr. Beispielsweise erhielten wir mit der grössten verwendeten Oelmenge von 0,2560 g. nur 0,7 cc. Gas. Desgleichen führten wiederholt Bestimmungen nach Kjeldahl zu keinen Ergebnissen und später öfters vorgenommene Prüfungen des Clorcalciums der Wasserbestimmungsröhren mit Diphenylamin zeigten keine Blaufärbung, sodass mit Sicherheit das Oel als *nichtstickstoffhaltig* erklärt werden darf.

Elementaranalyse des Oels.

Von den vielen, mit verschiedenen Portionen des Oels ausgeführten Bestimmungen, seien hier diejenigen grösster Differenz angegeben:

0,100	g. Oel	ergaben	0,0706	g	H_2O	und	0,2856	g CO_2
0,1234	g. „	„	0,0839	g	„	„	0,3516	g „
0,1458	g. „	„	0,1018	g	„	„	0,4185	g „
0,0861	g. „	„	0,0604	g	„	„	0,2466	g „

Somit gefunden:		Berechnet für die Formel:
Für C: 77,88 %	für H: 7,84 %	$C_7 H_8 O$:
77,68 %	8,04 %	C=77,06 %
78,18 %	7,76 %	H= 8,26 %
78,08 %	7,79 %	O=14,68 %

Für O im Mittel: 14,18 %

Bestimmung einiger physikalischer Konstanten des Oels.

Siedepunktsbestimmung nach Schleiermacher: im Mittel 199,9° (corr.)

Molekulargewicht: 126,9 resp. 131,7 (nach Gefrierpunktserniedrigung)

Spezifisches Gewicht: 1,0201 bei 15° C.

Brechungsexponent (mittelst des Pulfrich'schen Refraktometers): im Mittel 1,5289 bis 24° C.

Eine ätherische Lösung des Oels zeigte sich als optisch inaktiv.

Chemische Eigenschaften des Oels.

Jsomer mit den Kresolen, zeigt das Oel auch annähernd den gleichen Siedepunkt und Reaktionsfähigkeit mit Millon. Typisch für dasselbe ist der charakteristische Güllegeruch, der allen, mit ihm in Berührung gekommenen Objekten hartnäckig anhaftet. Trotz seines hohen Siedepunkts ist es leicht flüchtig. In Wasser ist das Oel unlöslich; Alkohol, Petrolaether, Aether, Benzol, Aceton, Eisessig dagegen lösen es leicht. In Alkalien vorerst unlöslich, verschwindet die milchige Suspension beim Erhitzen unter Entwicklung eines eigentümlichen, an Cymol erinnernden Geruchs. Reaktion mit Lakmus: neutral. Millon's Reagens färbt die kleinsten Spuren zwiebelrot. Mit Fehling's Lösung gibt es keine Reaktion, mit Natriumbisulfit keine Verbindung und mit Silbernitrat keine Reduktion. Phloroglucin mit Salzsäure ruft keiner Färbung, dagegen löst sich das Oel in konz. Schwefelsäure mit roter Farbe. Wie schon erwähnt, enthält das Oel keinen Stickstoff, entgegen der Beobachtung Städeler's, der dasselbe nicht rein erhalten konnte.

a) Oxydationsversuche.

Verhalten gegen Chromsäure.

1 g. Oel wurde in 20 g. Eisessig gelöst und tropfenweise eine Lösung von Chromsäure bekannten Gehalts zugesetzt bei Wasserbadtemp. von 40 55 Grad. Nach mehrtägigem Stehen konnte durch Wasserzusatz kein Oxydationsprodukt erhalten werden, auch das Oel war nicht mehr zurückzugewinnen, sein Geruch war vollständig verschwunden — Oxalsäure war in der Flüssigkeit nicht nachweisbar. Verdünnte Chromsäurelösungen hatten keine Wirkung.

Verhalten gegen Salpetersäure von 1,51 sp. Gew.

Unter stetem Kühlen wurden 2 g Oel mit der Capillarpipette tropfenweise und unter Schütteln in diese Salpetersäure gebracht und nach Erkalten und längerem Stehenlassen die Mischung am Rückflusskühler auf dem Wasserbad bei einer Temp. von 50° gehalten. Es bildete sich eine schwammige, orangegelbe Masse, die in Aether leicht löslich war, gereinigt teilweise erstarrte, und in Aether gelöst, noch sauer reagierte. Bei dem Versuch, dieses Produkt zu fraktionieren, entstanden schon bei 78 Grad nitrose Dämpfe und die ganze Masse war bei 94 Grad verkohlt. Auch spätere Versuche, mit Zinkkarbonat ein Salz zu erhalten, verliefen resultatlos. Nicht bessere Erfolge hatten wir bei Oxydationsversuchen mit verdünnter Salpetersäure und Wasserstoffsuperoxyd in Aceton.

Verhalten gegen Permanganat.

Bei der Prüfung auf Doppelbindung mit Bayer's Reagens war in essigsaurer Lösung durch längeres Stehen ein unlöslicher, gelbbrauner Niederschlag von organischer Natur erhalten worden. Infolgedessen versuchten wir, das Oel mit Permanganatlösung 1/50 Normal zu oxidieren. Die Entfärbung war anfangs eine momentane, nach und nach aber wurde die Lösung zusehends dunkler und später schied sich eine schmutzig gelbbraune, an den Wänden

hartnäckig anhaftende, klebrige Masse aus, während die nun folgenden Manganatzusätze längeres Schütteln bis zur Entfärbung erforderten. Nach anscheinend eingetretener Beendigung der Oxydation wurde die Reaktionsmasse der Ruhe überlassen. Der nach einigen Tagen abgesetzte Niederschlag kann auf dem Filter gesammelt werden als harzartige, amorphe Masse, die sich gut in warmem Eisessig löst und zugefügtes Permanganat auf's neue entfärbt. Diese Zusätze des Oxydationsmittel's werden bis zu bleibender Rotfärbung fortgesetzt. Da sich weder ein Niederschlag, noch eine in der Säure gelöste, feste Substanz nachweisen lässt, wird die essigsaure Lösung mit verschiedenen Extraktionsmitteln behandelt. Petrol- und Aethylaetherauszug ergeben einen angenehm riechenden, dadurch an Amylacetat erinnernden Rückstand, der harziges Aussehen hat und nicht kristallisierbar ist. Auch dies ist keine einheitliche Substanz, sondern löst sich teilweise in Alkohol (mehr warm als kalt), teilweise in Aether und der Rest in einer Mischung von Alkohol und Aether. Alle ausgeführten Kristallisationsversuche verlaufen erfolglos. Gleichwohl wurden diese Oxydationsversuche wiederholt und zwar mit 5% Permanganatlösung.

2 g. Oel wurden damit im Schüttelapparat nach Zusatz von etwas Alkohol tagelang geschüttelt unter Erneuerung des Manganatzusatzes bei jeweiliger Entfärbung. Auch hier bildete sich nach und nach die harzige, klebrige Masse, welche durch weitere Zusätze des Oxydationsmittel's langsam wieder verschwand. Auch der angenehm aromatische Geruch trat auf, und liess sich durch Behandlung mit Aether der Flüssigkeit entziehen.

Nach beendigter Oxydation — es waren 12 g. MnO_4K verbraucht worden (!) wurde durch Natriumbisulfit entfärbt und eine klare, mostgelbe Lösung erhalten. Im Dampfstrom destilliert, ergab sie ein Destillat von neutraler Reaktion, in welchem filzige Nadeln suspendiert waren, die nach ihrem Schmelzpunkt zu schliessen, identisch mit dem, durch wässerige Kalilauge erhaltenen Produkt sind. Alle weitern Anstrengungen andere Reaktionsprodukte zu erhalten, blieben erfolglos; auch keines der üblichen Extraktionsmittel vermochte einen definierbaren Körper auszuziehen. Im Hinweis auf die Resultate der Kalibehandlung erwähnen wir hie

ausdrücklich, dass weder Benzoesäure, noch Phenole auch nur qualitativ je nachgewiesen werden konnten, obwohl wir diese Oxydationsversuche zur Vermeidung der Zersetzung leicht angreifbarer Produkte auch in neutraler Lösung und unter Verwendung von Natriumformiat statt Bisulfit fortsetzten.

---

b) **Reduktions- bezw. Hydrierungsversuche.**

Behandlung des Oels mit Natrium in Aetherlösung.

10 g. Oel werden in zehnfachem Gewicht Aethyläether (nicht entwässert) gelöst und Natriumschnitzel portionsweise eingetragen. Nach Beendigung der H-Entwicklung und eintägigem Stehen wird filtriert, der Aetherverdunstungsrückstand mit Wasser aufgenommen und im Extraktionsapparat mit Petrolaether erschöpft. Das so gewonnene Oel erinnert nach Eigenschaften und Aussehen an das ursprüngliche Produkt. Die Prüfung auf eine entstandene Natriumverbindung verläuft negativ; es lassen sich auch keine weitern wasserlöslichen Substanzen nachweisen. Nach vorgenommener Reinigung und Destillation lässt sich das Oel zu weitern Untersuchungen wieder verwenden.

Behandlung mit Essigsäure und Zinkstaub.

1 g. Oel, in 200cc Eisessig gelöst, werden am Rückflusskühler auf dem Wasserbad mit gereinigtem Zinkstaub während zwei Tagen der Digestion unterworfen, indem von Zeit zu Zeit frischer Zinkstaub in kleinen Mengen eingetragen wurde. Nach Erkalten und Verdünnen mit Wasser tritt keine Fällung ein; Extrahieren mit Petrolaether aber lässt das unveränderte Oel wieder zurückgewinnen.

c) Halogenieren.

Verhalten des Oels gegen Brom.

Versetzt man die Chloroformlösung des Oels (1,5 g.) mit einigen Tropfen einer Lösung von 10 g. Brom in 50 g. Chloroform, so dauert es ziemlich lange, bis die Braunfärbung verschwindet, während mit verdünnter Bromlösung dies sofort eintritt. Nach Zusatz von 2 g. Brom hinterbleibt beim Verdunsten des Chloroform ein Oel, das nach Wegnahme des Bromüberschusses nicht zum Kristallisieren gebracht werden konnte. Trotz fallen Reinigungsverfahren mit Petrolaether und Alkohol blieb es sirupartig und zeigte wenig einladende Eigenschaften. Da ein Auftreten von Bromwasserstoff nicht konstatiert werden konnte, kann es sich wohl nur um ein Additionsprodukt handeln, dessen Natur noch aufgeklärt werden muss.

Verhalten gegen Jod.

Wie wir im analytischen Teil nachgewiesen haben, beeinlusst die Gegenwart dieses Oels die Phenolbestimmung nach *Messinger-Vortmann* in ungünstiger Weise. Umgekehrt aber ist gerade diese Methode deshalb geeignet, das Jodprodukt des Oels zu liefern. Zu diesem Zweck wird eine abgewogene Menge desselben am besten im Schottkolben mit eingeriebenem Stöpsel abgewogen, Wasser und etwas 1/10 N Natronlauge zugesetzt und der Kolben im Wasserbad auf 60 Grad erwärmt. Nach Zusatz der vorgeschriebenen Jodlösung bis zu bleibender Braunfärbung wird einige Stunden (über Nacht) gewartet und alsdann nach Zusatz von Schwefelsäure und Stärke, mit Thiosulfat der Jodüberschuss zurücktitriert. Die Entfärbung tritt mit dem letzten Tropfen scharf und sofort ein, das Jodprodukt bildet einen schmutziggrünen Niederschlag, der mühelos auf einem Filter gesammelt werden kann und nach dem Trocknen über Schwefelsäure ein Pulver gleicher Farbe darstellt.

Ausgeführte Bestimmungen:

0,1314 g.	erfordern	58,8 cc	N/10	Jodlösung, entspr.	0,7438 g. Jod.
0,0343 „	„	15 „	„	„	0,1898 „ „
0,0122 „	„	6,25 cc	„	„	0,0791 „ „
0,2149 „	„	101,5 cc	„	„	1,284 „ „

Daraus berechnet sich die Jodcapacität des Oels C_7H_8O:

Aus	1)	zu	611	g.	Jod,	und	hieraus	die	Anzahl	Jodmoleküle 2.4
„	2)	„	597	„	„	„	„	„	„	= 2.35
„	3)	„	700	„	„	„	„	„	„	= 2.75
„	4)	„	646	„	„	„	„	„	„	= 2.5

Nach diesen Resultaten zu schliessen, bildet das Oel ein Dijodprodukt.

Einwirkung von Jodwasserstoffsäure.

Das bei der Zeisel'schen Oxymethylbestimmungsmethode erhaltene Reaktionsgemisch wird mit Natriumbisulfit behandelt und die saure Lösung mit Aether erschöpft. Nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Alkohol wird eine weisse Masse erhalten, die gleiche Eigenschaften, wie das KOH-Produkt aufweist. Spätere, im Einschlussrohr ausgeführte Behandlungen des Oels mit HI von 1,7 sp. Gew. führten zu dem gleichen Reduktionsprodukt.

Einwirkung von Salzsäure.

Wird trockenes Salzsäuregas in eine Petrolaetherlösung des Oels geleitet, so bilden sich bald rötliche Tropfen bis schliesslich sich ein brauner Körper ausscheidet, der Neigung zur Kristallisation zeigt. Im Einschlussrohr mit konz. HCl längere Zeit bei Wasserbadtemp. erhitzt, bildet das Oel eine braunschwarze, flüssige Masse, die beim Erkalten erstarrt.

d) Prüfung auf das Vorhandensein von Oxymethylgruppen nach Zeisel.

Wiederholte Behandlung des Oels mit HI nach dieser Methode ergab nie auch nicht den kleinsten Niederschlag von Jodsilber, sodass mit Sicherheit das Fehlen obiger Verbindungen im Oelmolekül angenommen werden muss. Jeweils nachher ausgeführte Kontrollbestimmungen mit Alkohol überzeugten uns von der Beweisfähigkeit des negativen Versuchs. Das Reaktionsgemisch weist einen teerartigen Geruch auf und gestattete die Isolierung des unter HI-Behandlung erwähnten Produkts.

---

c) Reaktionsfähigkeit mit den Ketonreagentien der Terpenreihe.

Verhalten gegen Semikarbacidchlorhydrat.

Auf den Rat von Herrn Prof. Rupe, der in dem Oel ein Keton vermutete, versuchten wir, mit Semikarbacid kristallisierende Verbindungen des Oels herzustellen. Da die Fällung von 1,0 g. Oel mit 1,0 g. Natriumacetat und 0,8 g. Semikarbacidchlorhydrat in Wasser und Eisessig nur schwer wieder in Lösung gebracht werden konnte, nach eintägigem Stehen bei Zusatz von Wasser sich aber milchig trübte, versuchten wir, die Verbindung aus Alkohol zu gewinnen. Dazu wurden 3 g. Oel in absolut. Alkohol in die Mischung von 2,4 g Semicarbacid und 3 g. Natriumacetat gebracht, im Scheidetrichter geschüttelt und fünf Tage der Ruhe überlassen. Die anfangs klare, hellgelbe Flüssigkeit ist nach dieser Zeit trübe und auf den Gefässwänden zeigen sich kristallinische Gebilde. Tropfenweise in Wasser gebracht, fällt eine milchige Wolke aus. Im Extraktionsapparat mit Aethylaether erschöpft, gibt diese Lösung einen Auszug von brauner Farbe und syrupartiger Beschaffenheit; nach Erkalten hat sich eine helle Kristallhaut an seiner Oberfläche gebildet, ohne dass die eingeschlossene Lösung feste Form annehmen will. Nach Auflösen in Alkohol wird das klare Filtrat der Verdunstung überlassen und da auf diese Weise keine Trennung der kristallinischen Masse von dem Syrup möglich ist, wird durch Dekantieren mit heissem Wasser das harzige Oel entfernt und der in heissem Wasser unlösliche, kristallinische Teil von

gelblichem Aussehen auf einem Filter gesammelt. Leider reichte seine Menge nicht aus, um ein möglicherweise gebildetes Karbazon nachweisen zu können; die vorgenommene Prüfung auf Stickstoff mit Na metall. zeigt deutlich das Vorhandensein dieses Elementes.

Obwohl wir später mit besonderem Interesse der Herstellung von Semikarbazonen einen grossen Teil der jeweils frischgewonnenen Oelmengen opferten, gelang es uns nie mehr, kristallinische Verbindungen zu erhalten. Wir müssen deshalb annehmen, dass das Oel in der durch seine Herstellungsweise bedingten Form keine Ketonverbindung sein wird, was auch die nachstehenden Resultate zu bestätigen scheinen.

Verhalten gegen Amidoguanidinchlorhydrat.

Wird der in Aether suspendierte Auszugsrückstand des Gemisches von Amidoguanidinchlorhydrat mit Oel in filtrierte wässerige Pikrinsäure gegossen, so tritt sofort eine citronengelbe Fällung ein. Reinigung durch Lösen in Alkohol führt zu einem braunen Sirup, der stickstoffhaltig ist, jedoch trotz allen Bemühungen nicht zum Kristallisieren gebracht werden kann.

Verhalten gegen Hydroxylaminchlorhydrat.

Die Ausführung dieses Versuchs nach Wallach ergab deutlich die Reaktionslosigkeit des Oels mit diesem Reagens. Dagegen erhielten wir unter gewissen nicht näher erkannten Umständen resp. Bedingungen einen filzigen Niederschlag, der sich als identisch mit dem durch Kalilauge erhaltenen Kohlenwasserstoff erwies, (Siehe hinten Elementaranalysen des Urogen). Sein Entstehen dürfte auf die Anwendung von Kalihydroxyd zurückzuführen sein.

f) Kondensationsversuche.

Verhalten gegen wässrige Kalilauge.

Merkwürdig ist der Einfluss einer wässrigen Kalilösung auf das Oel. Schon in der Kälte tritt bei jeder Berührung kleinster Mengen des vorher im Vacuum fractionierten Oels mit nicht zu verdünnter Lauge ein terpenartiger Geruch auf, besonders dann leicht bemerkbar, wenn das Oel in Gasform mit Kalilauge in

Berührung kommt, was wir bei allzurasch verlaufenen Verbrennungen nach *Dumas* des öftern konstatieren konnten. Das hiebei aufgefangene Gas war leicht entzündbar.

Schon ein erster Versuch, bei welchem 2 g Oel mit 5 % Kalilauge am Rückflusskühler gekocht wurden, ergab durch Petrolaetherextraktion ein Gemisch von grünlichen Tropfen mit einer weisslichen, Parafin-ähnlichen Masse. Bei Kathodenlichtvacuum ging die Destillation dieses Gemisches ungleich langsamer von statten, als die des nicht umgewandelten Oels. Der Siedepunkt stieg im Vacuum auf über 150 Grad. Eine Trennung konnte auf diese Weise nicht erreicht werden. Das Reaktionsgemisch, kalt, leicht in Stücke zerschneidbar, brachten wir nun im Einschlussrohr mit Kalilauge von 1 : 1 in Berührung. Unter häufigem Umschütteln wurde die Röhre 6 Stunden im Wasserbad erhitzt. Eine anfangs gebildete braune Masse wird zusehends geringer und erweckt den Anschein, der Muttersubstanz zweier, am Ende des Versuchs vorgefundener Produkte: eines Harzes und filziger Nadeln, die sich bei Erkalten als weisse Masse in Schuppen ausscheiden. Petrolaether löst diese; deshalb wird der Rohrinhalt im Katz'schen Extraktionsapparate damit erschöpft. Der Petrolaetherrückstand ist gelblich und scheidet beim Erkalten vorwiegend weisse, filzige Nadeln aus. In heissem Alkohol mit Mühe gelöst, fallen diese Nadeln beim Erkalten desselben mit blendend weissem Glanze aus und werden durch Filtration gesammelt. Nach Auswaschen und zweimaligem Umkristallisieren aus heissem Alkohol wird die weisse Masse im Vacuumexsiccator getrocknet. (Siehe Elementaranalysen des Urogen).

Verhalten in der Kalischmelze.

5 g. Oel wurden in ein Vacuumdestillationskölbchen gebracht, andrerseits eine gleichgrosse Menge festen Kalihydroxyds im oberen Teil des Kölbchens durch vorsichtiges Erwärmen zum Schmelzen gebracht. Die tropfenweise in das Oel fliessende Lauge verwandelt diese in eine orangefarbene, nun selbsttätig sich mehr und mehr erhitzende Masse. Das Kölbchen blieb während dieses Vorganges geschlossen, jedoch unter gewöhnlichem Druck. Erst nach Erkalten wird die Vacuumpumpe in Gang gesetzt und das Kölbchen im Paraffinbad langsam erhitzt. Bei eintretendem

Sieden (äussere Badtemp. 112 Grad) destilliert bald ein vereinzelter Tropfen eines lichtbrechenden, farblosen Oels über, der in dem von Kohlensäureschnee umgebenen U-rohr aufgefangen wird. Während der nun folgenden halbstündigen Unterhaltung des Kochens tritt kein weiteres Destillationsprodukt mehr auf, obwohl die äussere Badtemperatur bis auf 185 Grad gebracht wird, ohne das ruhige Sieden zu beeinflussen. Nach Unterbrechung der Operation enthält das U-Rohr im Kältegemisch etwas Eis, das nach dem Schmelzen den zu Anfang der Destillation übergegangenen Oeltropfen als stark lichtbrechendes, wasserhelles und terpenartig riechendes Oel aufschwimmen lässt. Der Kölbcheninhalt wird nach Erkalten in Wasser gelöst und filtriert. Neben einem braunen, voluminösen aber kaum wägbaren Rückstand wird ein hellgelbes, klares Filtrat erhalten. Durch Einleiten von gewaschener Kohlensäure wird vorerst eine Trübung, darauf eine dunkle Ausscheidung hervorgerufen. Der kreosottartige Geruch, sowie ihre Destillationsfähigkeit im Dampfstrom lassen dieselbe als ein Phenol ansprechen. Weitere Bemühungen, aus dem phenolfreien alkalischen Destillationsrückstand andere Reaktionsprodukte zu erhalten, sind ergebnislos.

Um das so entstandene Phenol einigermassen charakterisieren zu können, wird der noch vorhandene Rest an Oel der gleichen Behandlung mit Kalihydroxyd unterworfen.

15 g. Oel werden mit der gleichen Gewichtsmenge Kalihydroxyd am Rückflusskühler eine Stunde im Sieden erhalten. Bemerkenswert ist das Auftreten des eigentümlichen, terpenartigen Geruchs. Nach Erkalten wird die alkalische Lösung vorerst im Dampfstrom ohne Einleiten von CO_2 im Sieden erhalten und dadurch der vorstehend erwähnte Geruchsträger entfernt. Nach Sättigung der Lösung mit Kohlensäure wird neuerdings in Dampf- und CO_2-Strom destilliert, bis die Prüfung mit Millon negativ bleibt. Das Destillat wird mit festem NaCl übersättigt und die Phenolmenge dadurch ausgeschieden. Durch Lösen in Petrolaether wird das Phenol gewonnen; weitere Abbauprodukte sind auch hier nicht nachweisbar.

Nach einer ersten Destillation im Vacuum wird das Phenol mit geschmolzenem Natriumsulfat behandelt und nach längerem Stehen über Baryumsuperoxyd einer zweiten Vacuumdestillation

bei Kathodenlicht unterworfen, wobei die Gesamtmenge bei einer äussern Badtemperatur von 70 Grad anstandslos destilliert. Das auf diese Weise erhaltene Phenol ist eine farblose, stark hygroskopische, wasserhelle Flüssigkeit, die im Laufe weniger Tage trotz sorgfältigen Luftabschlusses gelblichgrün wird. Erst im Kohlensäureschnee erstarrt dieselbe zu feinen, baumwollartigen Kristallfädchen, die bei gewöhnlicher Temperatur bald wieder schmelzen.

g) Umwandlungsfähigkeit des Oels.

Nach den angeführten Versuchen zeigt das wenig reaktionsfähige Oel, für dessen nähere Bezeichnungen wir — trotz der Ergebnislosigkeit des angestrebten Ketonnachweises — vorläufig den Namen **Urogon** vorschlagen, eine besondere Empfindlichkeit gegenüber der Kalibehandlung. Während wässrige Lauge einen Kohlenwasserstoff ergibt, liefert die Schmelze mit festem Kali ein Phenol.

Diese Ergebnisse sind um so auffallender, da wir gerade der Anwendung von verdünnter Kalilauge die Möglichkeit einer quantitativen Trennung des frischgewonnenen Urogons von den Harnphenolen verdanken, ohne anderseits das Auftreten des Kohlenwasserstoffes je bemerkt zu haben. Vorstehende Erwägungen drängten uns deshalb die Vermutung auf, dass das aus der Vacuumdestillation hervorgegangene Urogon eine Veränderung durchgemacht haben müsse, möglicherweise die Fähigkeit besitze, sich intramolekular umzulagern. Eine Stütze dieser Annahme sehen wir in der Tatsache der Farbveränderung, sowie in der Beobachtung, dass nämlich jedesmal, wenn die Trennung des Urogons von den Phenolen nicht sofort nach dem Zusatz der nötigen Kalilauge vorgenommen werden konnte, die erst nach mehrtägigem Stehen ausgeführte Petrolaetherextraktion verhältnismässig wenig oder gar kein Urogon ergab. Da wir uns, wie früher erwähnt, von der Unlöslichkeit alkalischer Phenolate in Petrolaether durch quantitative und qualitative Versuche zur Genüge überzeugt haben und auch Gemische der isomeren Kresole mit Phenol kein anderes Verhalten zeigten, sogar tagelanges Extrahieren solcher Mischungen mit Petrolaether keine wägbaren Verluste ergaben, liegt es nahe, auch dem Urogon phenolartige

Eigenschaften zuzuschreiben, in den Fällen, da es sich bei Gegenwart von KOH nicht mehr wie früher in Petrolaether löst. Dieser Ueberlegung folgte nachstehender Versuch:

2 g. Oel wurden in Aethylaether gelöst und mit 10 % KOH geschüttelt. Die gelblichgrüne Aetherlösung wurde bald durch die alkalische Flüssigkeit entfärbt. Nach halbstündigem Schütteln war der Entzug vollständig, wie die Prüfung eines Probeversuchs mit Millon klarlegte. Der Aether hinterliess einen geringen Rückstand, der sich glatt in Akohol löste, somit den typischen Kohlenwasserstoff nicht enthielt. In der wässrig alkalischen Lösung aber ergab die Sättigung mit Kohlensäure einen Niederschlag, und darauffolgende Destillation im Dampfstrom eine milchige Flüssigkeit, die neutral reagiert, mit Millon sich weinrot färbt und erfrischenden Geschmack besitzt. Ein ähnliches Resultat zeitigte die Behandlung einer Petrolaetherlösung von Urogon mit 1% KOH. Nach vollständigem Entzug wurde die wässrige Lösung mit SO_4H_2 angesäuert und durch Petrolaether daraus ein bräunliches Oel erhalten, das sich leicht in KOH löste, im Wasserdampf destilliert, milchige Trübung ergab und sich rötlich mit concentrierter SO_4H_2 färbte. Mit Eisenchlorid gab es eine Färbung, die wir stahlblau nennen möchten, mit Millon intensiven roten Niederschlag. Bromwasser gab eine weissgelbe Trübung, dagegen Salpetersäure keinen wahrnehmbaren Farbstoff. Von Oel unterscheidet sich dieser Körper durch seinen phenolartigen Geruch.

In dieser Möglichkeit der Umwandlung des Urogons in einen phenolartigen Körper liegt vielleicht auch die Erklärung der Zunahme des Phenolgehaltes bei unsern Kuhharnuntersuchungen; im Haushalte der Natur aber hätte diese Fähigkeit die Bedeutung, dass gerade die durch allzugrosse Reinlichkeit keineswegs geplagte Bevölkerungsklasse in ihrem charakteristischen „Stallgeruch“ auch eine Art von Desinficiens an sich trägt!

Chemische Untersuchung der Oelderviate.

Wie vorstehend ausgeführt, ergibt einzig die Kalibehandlung aus dem Urogon genau definierbare, fassbare Reaktionsprodukte: einerseits einen Kohlenwasserstoff, den wir mit **Urogen** bezeichnen andrerseits ein Phenol, das **Urogol**. Aus dem bei der Darstellung des Kohlenwasserstoffs auftretenden harzartigen Körper kann durch nachherige Kalischmelze ebenfalls Urogol erhalten werden, während Schmelzversuche mit Urogen kein Phenol ergaben. Auch das in Alkohol leicht lösliche Harz ergibt mit den Ketonreagentien keine Verbindungen.

Urogen.

Sowohl aus dem Urogon, als auch aus dem nach seiner Destillation im Vacuumkölbchen verbleibenden stickstoffhaltigen Rückstand lässt sich durch wässerige Kalilauge der Kohlenwasserstoff gewinnen. Sein zufälliges Auftreten unter andern Bedingungen haben wir vorstehend erwähnt.

Elementaranalysen.

a) **Urogen von der KOH-Behandlung im Rohr:** Schmelzpunkt = 59,5 Grad.
0,1228 g = 0,1604 g H_2O u. 0,3809 g CO_2, entspr. H=14,51% C=85,59%
0,1348 g = 0,1786 g H_2O u. 0,4229 g CO_2, entspr. H=14.72% C=85,55%

b) **Urogen aus dem Rückstand der Oeldestillation:** Schmelzpunkt 60°.
0,072 g = 0,1003 g H_2O u. 0,2260 g CO_2 entspr. H=15,48% C=85,60%
0,1093 g = 0,1560 g H_2O u. 0,3415 g CO_2 entspr. H=15,86% C=85,20%

c) **Urogen vom Versuch der Oxymbildung**: Schmelzpunkt 59,9 Grad.
0,0686 g = 0,0892 g H_2O u. 0,2157 g CO_2 entspr. H=15,45% C=85,78%
0,1271 g = 0,1705 g H_2O u. 0,3970 g CO_2 entspr. H=14,91% C=85,18%

d) **Urogen, erhalen bei KOH-Behandlung** I : I. Schmelzpunkt 59,9 Grad.
0,0970 g = 0,128 g H_2O u. 0,3032 g CO_2 entspr. H=14,66% C=85,24%
0,1035 g = 0,1341 g H_2O u. 0,3218 g CO_2 entspr. H=13,39% C=84,80%

Der Siedepunkt des Urogen wurde im Hochvacuum bei grünem Licht bei genau 140.0 Grad liegend gefunden, die ungenauere Bestimmung unter gewöhnlichem Druck ergab 309-310 Grad.

Die Bestimmung des Molekulargewichts ergab im Mittel 285,6.

Aus den vorstehend gemachten Angaben ergibt sich die Formel C_{21} H_{42};

berechnet für $C^n H^{2n}$: C = 85,71 % H = 14,72 %

gefunden im Mittel : C = 85,37 % H = 14,98 %

Trotzdem verhält sich das Urogen wie ein gesättigter Kohlenwasserstoff; Brom, in seine Schwefelkohlenstofflösung gebracht, wird trotz mehrtägiger Sonnenbelichtung nicht addiert. Dieser Körper kristallisiert anscheinend im monoklinen System und zwar in schönen, seidenglänzenden, feinen Nädelchen, die sich zu schuppenartigen Gebilden vereinigen. In kaltem Alkohol sind dieselben kaum löslich, schwer löslich in heissem Alkohol, unlöslich in Wasser. Dagegen löst sich das Urogen leicht in Benzol, Aether, Toluol aus welch letzterem es durch Alkohol leicht gefällt wird. Schwer löslich in Eisessig, leicht dagegen in Aceton und Petrolaether gibt die Substanz mit keinem Reagens eine Färbung oder Fällung. Sie ist vollkommen geruchlos und von wachsartiger Konsistenz.

Urogol.

Die Berechtigung, diesen Körper als ein Phenol anzusprechen, leiten wir ab aus seinem chemischen Verhalten. Schon bei der Kalischmelze erwähnten wir seine neutrale Reaktion, die Löslichkeit in Alkali, sowie die Leichtigkeit, mit welcher das Urogol aus solchen Lösungen durch CO_2 wieder ausgeschieden wird. Seine Flüchtigkeit mit Wasserdampf, sowie das milchige Aussehen dieses Destillats, sein süsslicher Geschmack, die Färbung mit Millon und Eisenchlorid, seine Fällbarkeit mit Brom und Jod, endlich sein kreosotartiger Geruch sind alles Eigenschaften, die den Körpern der ihm zugewiesenen Klasse zukommen.

Elementaranalyse.

a) 0,1160g=0,0831g H_2O u. 0,3313g CO_2 entspr. H=7,874 % C=77,892 %
b) 0,1674g=0,1200g H_2O u. 0,4787g CO_2 entspr. H=7 965 % C=77,996 %
c) 0,0919g= 0,067 g H_2O u. 0,2628g CO_2 entspr. H= 8 10 % C=77,989 %

Annähernd lässt sich aus diesen Ergebnissen die Bruttoformel C_7H_8O aufstellen, welche laut Berechnung C = 77,67 % H = 8,26 % und O = 14,68 % erfordert. Auffallend dagegen ist die beinahe theoretische Uebereinstimmung der prozentischen Zusammensetzung von Urogol und Urogon. Im Mittel ergab das letztere: C = 77,95, H = 7,83 % während Urogol im Mittel ergibt:

C = 77,96, H = 7,98 %

Die Differenz dieser Zahlen mit denjenigen der Kresole — wiederum im Sinne eines grössern C-gehalts - scheint uns keine zufällige zu sein und hätte uns auch bewogen, für die gefundenen Körper die besser ihrer Zusammensetzung entsprechende Bruttoformel $C_{15}H_{16}O_2$ aufzustellen, wenn nicht die ermittelten Molekulargrössen uns davon abhielten Interessant ist auch das Resultat der Siedepunktbestimmung, die nach der genauen Methode von Schleiermacher

für Urogol im Mittel: 207,6 ° Cel. (Corr.)

für Urogon 199,9 Grad und

für p-Kresol 202,3 Grad Celsius ergab.

Die weitere Untersuchung unseres Phenols ergab nachstehende Resultate:

Die Bromverbindung gibt einen gelblich weissen, wahrscheinlich nicht kristallinischen Niederschlag, der sich in Natronlauge mit weinroter Färbung löst.

Mit Eisenchlorid ergibt es die gleiche Färbung, wie Kresol (para).

In conc. Schwefelsäure löst sich das Urogol mit Rotfärbung, während die Kresole dies farblos tun. In Wasser ist unser Phenol sehr schwer löslich und gibt dabei eine milchige Trübung, die erst auf Zusatz von Alkohol verschwindet. Ein Gramm Urogol in 100 cc H_2O, erfordert hiezu 140 cc Alkohol, während vergleichsweise alle drei Kresole sich anstandslos in der gleichen Menge Wasser ohne weitern Zusatz klar lösen.

Konz. Salpetersäure ergibt einen orangegelb gefärbten Körper leicht löslich in Aether und Alkohol, unlöslich in Wasser.

Die Molekulargewichtsbestimmung nach der Gefrierpunktserniedrigung ergab die Zahl: 113,3.

Die Polarisationsebene wird von einer wässrig-alkohol. Lösung von Urogol nicht gedreht.

Der Brechungsexponent des Urogol beträgt: 1,53054 bei 26° C.

Nach der Methode *Kossler-Penny* lässt sich das Urogol unter Anwendung des Faktors für Parakresol quantitativ ermitteln, wie nachstehende Bestimmungen zeigen:

An Urogol abgewogen: 1. 0,900 g gefunden 0,0901 g
2. 0,1769 g „ 0,1764 g

Als grossen Unterschied im Verhalten des Urogols gegenüber demjenigen von Phenol und Kresol erwähnen wir das lästige Nachbläuen der Stärkelösung bei der Titration, welches das Ende derselben nicht sicher erkennen lässt. Diese Eigentümlichkeit, welche wir bei Indol und Skatol ebenfalls konstatierten, ist uns seiner Zeit auch bei sämtlichen Phenolbestimmungen im gegärten Harn aufgefallen. Das Jodprodukt des Urogols ist auch im Aussehen von demjenigen des Parakresols und Phenols verschieden, indem es tief grasgrün ausfällt, während Phenol einen weinroten Parakresol einen schmutziggrünen Niederschlag liefert.

Trotz des Widerspruchs, in den uns die Bruttoformel des, aus Urogon mittels der Kalischmelze erhaltenen Phenols mit der Theorie versetzt, müssen wir das Urogol als einen, durch seine Eigenschaften von den drei Kresolen verschiedenen Körper betrachten. Der höhere Siedepunkt, das Verhalten gegen gewisse Reagentien, sein Geruch, sowie die schwere Löslichkeit in Wasser sprechen ganz für diese Auffassung. Dagegen wagen wir keine Behauptungen aufzustellen in Bezug auf seine Entstehung aus Urogon. Wir haben vergebens uns bemüht, in letzterem möglicherweise die Ketoform des Kresols zu erkennen, — eine Auffassung, die uns Herr *Prof. Willstätter* nahelegte und sind heute zur Ansicht gekommen, dass das Urogon zwar ein einheitlicher, aber eigenartiger Körper ist. Die Möglichkeit intramolekularer Umlagerung des Urogons findet in der für beide Körper identischen Bruttoformel zwar eine Stütze, die Leichtigkeit aber, mit welcher das Urogon dagegen einen festen Kohlenwasserstoff mit hohem Molekulargewicht, das *Urogen* liefert, zwingt uns, von jeder Einreihung in eine der organischen Gruppen vorläufig abzusehen.

Schlussbetrachtungen.

Mit der vorliegenden Arbeit ist es uns nicht bloss gelungen, durch analytische Belege den Beweis zu erbringen, dass die gegenwärtig übliche Methode der Phenolbestimmung zu falschen Resultaten führen kann, sondern wir haben auch im Urogon direkt einen Körper isolieren können, der, gleichzeitig mit den Phenolen zur Titration gebracht, mit Jod ebenfalls eine Verbindung eingeht, möglicherweise unter den herrschenden Bedingungen ein Phenol zu liefern im Stande ist.

Des weitern ist durch unsere Untersuchungen die Vermehrung gebundener Phenole bei der Aufbewahrung des Harns, sowie die Bildung leicht zerlegbarer Phenolverbindungen ausserhalb des Tierkörpers analytisch nachgewiesen (Siehe Besprechung der Tab. VII pag. 21).

In Bezug auf die Wirksamkeit der Phenole und der Benzoesäure auf die Nitrifikationsflora des Bodens haben wir einzig für die letztere einen einigermassen nachteiligen Einfluss sicher nachweisen können. Wir müssen aber gleich bekennen, dass die Unwirksamkeit der Kresollösungen unserer Auffassung von der Wichtigkeit der Bakterientätigkeit im Boden einen herben Schlag versetzt hat. Vorläufig glauben wir noch, dass jede Bakteriengattung selbst durch verdünnte Kresollösung in der Entwicklung gehemmt werden müsse, dass also ihre Arbeit — wenn solche wirklich stattfindet — dadurch in Mitleidenschaft gezogen werden muss.

Das Oel Städeler's haben wir isolieren können und als einen einheitlichen Körper mit bestimmten Eigenschaften erkannt, der wahrscheinlich infolge innerer Verschiebungen bis jetzt aber eine genaue Definition und Klassifizierung noch nicht zulässt. Zwei Spaltungsprodukte dieses Körpers, das *Urogen* und *Urogol* haben wir aufgefunden und einigermassen charakterisiert.

Der Gegenwart des Urogons und nicht derjenigen isomerer Kresole — wie *Preusse*[1]) glaubt — ist es wohl zuzuschreiben, wenn es *Baumann* nie gelang, das aus dem Harn gewonnene Parakresol zur Kristallisation zu bringen.

[1]) Z. physiol. Ch. 2.355 (1879).

Sollte das Urogon, wie *Brieger*[1]) es uns vermuten lässt, auch im menschlichen Urin vorkommen, so wäre dem weiteren Studium dieses interessanten Körpers damit ein leichterer Weg gewiesen. *Brieger* schreibt (loc. cit.) „Oben habe ich erwähnt, dass bei der Destillation des an die Phenole gebundenen Kali ölige Tropfen übergingen. Schon *Hoppe-Seyler*[2]) gibt an, dass im Pferdeharn neben dem Phenol flüchtige *kampherartige* Körper sich vorfinden'"

Endlich sind wir durch die ausgeführten Arbeiten zu dem Ergebnis gekommen, dass das eigentliche Phenol keineswegs ein normaler Bestandteil *jedes* tierischen Urins ist, dass dieser Körper im normalen Kuhharn beispielsweise *nicht* vorkommt und von uns in allen untersuchten Menschenharnen mit Sicherheit einzig bei demjenigen eines Vegetarianers nachgewiesen werden konnte.

Zum Schlusse möchten wir noch auf die annähernde Uebereinstimmung der Bruttoformel unseres Urogen mit derjenigen von *Willstätters* Phyten[3]) hinweisen und trotz mancher sonstiger Verschiedenheiten damit andeuten, als könnte das Urogon ebenfalls ein im Laboratorium des Tierkörpers umgewandeltes Abbauprodukt des Chlorophyll's darstellen.

---

[1]) Z. physiol. Ch. 4.207 (1880).

[2]) Hoppe-Seyler, Handbuch der physiol. pathol. chem. Anatomie, 109 (1875).

[3]) Liebig's Annal. d. Chem. 354, 255 (1907).

Tabelle I.

Volldüngung. Vegetationsversuche: 1906.

Ernte-Erträge.

Versuchsreihe: 236. Erde: Liebefeld I. B. 103 c.
Versuchspflanze: Goldhafer. Datum der Einsaat: 10. Mai 1906.
Datum der Ernte: 1. Schnitt 13./VII., 2. Sch. 10/VIII., 3. Sch. 18. IX.

Düngung	Gefäss Nr.	Erträge der Einzelversuche an Trockensubstanz				Mittelertrag an Trockensubstanz			
		1. Schnitt g	2. Schnitt g	3. Schnitt g	Total g	1. Schnitt g	2. Schnitt g	3. Schnitt g	Total g
	346	32.2	11.2	16.2	59.6				
———	347	33.8	11.2	15.0	60.0	33.0	10.7	14.8	58.5
	348	33.0	9.7	13.2	55.9				
1.311 g Kali-benzoat	349	32.0	10.0	16.7	58.7				
	350	32.7	9.5	16.8	59 0	32.2	9.7	16.8	58.7
	351	31.9	9.5	17.0	58.4				
2.622 g Kali-benzoat	352	31.2	8.8	15.5	55.5				
	353	31.6	9.2	15.3	56.1	31.6	9.1	15.9	56.6
	354	32.0	9.3	16.9	58.2				
3.933 g Kali-benzoat	355	28.8	8.6	15.5	52.9				
	356	31.1	10.2	17.3	58.6	29.5	9.5	16.8	55.8
	357	28.7	9.6	17.7	56.0				

Tabelle II.

Phosphorsäure-Hunger. Vegetationsversuche: 1906.

Ernte-Erträge.

Versuchsreihe: 238. Erde: Liebefeld I. B. 1035.
Versuchspflanze: Goldhafer. Datum der Einsaat: 10. Mai 1906.
Datum der Ernte: 1. Schnitt 10./VIII., 2. Sch. 18./IX.

Düngung	Gefäss Nr.	Erträge der Einzelversuche an Trockensubstanz			Mittelertrag an Trockensubstanz		
		1. Schnitt g	2. Schnitt g	Total g	1. Schnitt g	2. Schnitt g	Total g
	370	11.8	7.8	19.6			
—	371	13.1	7.7	20.8	12.3	7.7	20.0
	372	11.9	7.7	19.6			
	373	12.7	8.5	21.2			
1.311 g Kali-benzoat	374	12.7	10.1	22.8	12.9	9.1	22.0
	375	13.4	8.7	22.1			
	376	12.5	9.1	21.6			
2.622 g Kali-benzoat	377	12.5	8.2	20.7	12.0	8.1	20.1
	378	11.0	7.1	18.1			
	379	9.0	7.4	16.4			
3.933 g Kali-benzoat	380	11.8	8.2	20.0	10.3	8.3	18.6
	381	10.2	9.2	19.4			

Tabelle III.

Stickstoff-Hunger. Vegetationsversuche: 1906.

Ernte-Erträge.

Versuchsreihe: 24o. Erde: Liebefeld B. 103c.

Versuchspflanze: Goldhafer. Datum der Einsaat: 10. Mai 1906.

Datum der Ernte: 13./VII., 10./VIII., 18./IX.

Düngung	Gefäss Nr	Erträge der Einzelversuche an Trockensubstanz				Mittelertrag an Trockensubstanz			
		1. Schnitt g	2. Schnitt g	3. Schnitt g	Total g	1. Schnitt g	2. Schnitt g	3. Schnitt g	Total g
	394	14.2	3.3	2.5	20.0				
———	395	14.0	2.7	3.2	19.9	14.1	3.1	2.9	20.1
	396	14.0	3.3	3.0	20.3				
1.311 g Kali-benzoat	397	14.9	3.0	3.1	21.0				
	398	14.6	3.1	2.8	20.5	14.5	3.1	3.1	20.7
	399	14.1	3.2	3.3	20.6				
2.622 g Kali-benzoat	400	13.1	3.3	2.9	19.3				
	401	13.3	3.4	3.1	19.8	13.2	3.2	3.0	19.4
	402	13.1	3.0	3 0	19.1				
3.933 g Kali-benzoat	403	12.4	3.5	3.2	19.1				
	404	12.2	4.0	3.7	19.9	12.3	3.7	3.3	19.3
	405	12.2	3.6	3.1	18.9				

Tabelle IV.

Volldüngung. Vegetationsversuche: 1906.

Ernte-Erträge.

Versuchsreihe: 237. Erde: Liebefeld I. 103c.

Versuchspflanze: Weissklee. Datum der Einsaat: 10. Mai 1906.

Datum der Ernte: 13./VII., 10./VIII., 18./IX.

Düngung	Gefäss Nr.	Erträge der Einzelversuche an Trockensubstanz				Mittelertrag an Trockensubstanz			
		1. Schnitt g	2. Schnitt g	3. Schnitt g	Total g	1. Schnitt g	2. Schnitt g	3. Schnitt g	Total g
	358	29.2	22.2	18.8	70.2				
—	359	29.8	25.5	14.6	69.9	29.4	23.6	15.4	68.4
	360	29·3	23.2	12.9	65.4				
1.311 g Kali-benzoat	361	29.7	23.7	15.7	69.1				
	362	30.0	25.3	13.1	68.4	29.5	24.1	14.7	68.3
	363	28 7	23.4	15.2	67.3				
2.622 g Kali-benzoat	364	29.2	20.3	17.9	67.4				
	365	29.6	22.7	12.3	64.6	29.4	22.2	14.2	65.8
	366	29.3	23.5	12.4	65.2				
3.933 g Kali-benzoat	367	23.8	22.5	17.3	63.6				
	368	25.0	21.5	15.5	62.0	25.0	23.0	14.4	62.4
	369	26.2	25.1	10.3	61.6				

Tabelle V.

Phosphorsäure-Hunger. Vegetationsversuche: 1906.

Ernte-Erträge.

Versuchsreihe: 239. Erde: Liebefeld B. 103c.
Versuchspflanze: Weissklee. Datum der Einsaat: 10. Mai 1906.
Datum der Ernte: 1. Schnitt 10./VIII., 2. Sch. 18./IX.

Düngung	Gefäss Nr.	Erträge der Einzelversuche an Trockensubstanz			Mittelertrag an Trockensubstanz		
		1. Schnitt g	2. Schnitt g	Total g	1. Schnitt g	2. Schnitt g	Total g
———	382	9.7	4.8	14.5			
	383	13.4	4.4	17.8	12.3	4.8	17.1
	384	13.8	5.2	19.0			
1.311 g Kali-benzoat	385	11.2	5.0	16.0			
	386	13.2	5.8	19.0	12.1	5.2	17.3
	387	11.8	4.7	16.5			
2.622 g Kali-benzoat	388	11.2	5.1	16.3			
	389	11.4	6.7	18.1	11.2	6.1	17.3
	390	10.9	6.5	17.4			
3.933 g Kali-benzoat	391	9.5	6.0	15.5			
	392	7.6	6.6	14.2	8.5	5.9	14.4
	393	8.3	5.2	13.5			

Tabelle VI.

Stickstoff-Hunger. Vegetationsversuche: 1906.

Ernte-Erträge.

Versuchsreihe: 241. Erde: Liebefeld B. 103 e

Versuchspflanze: Weissklee. Datum der Einsaat: 10. Mai 1906.

Datum der Ernte: 13./VII., 10./VIII., 18./IX.

Düngung	Gefäss Nr.	Erträge der Einzelversuche an Trockensubstanz				Mittelertrag an Trockensubstanz			
		1. Schnitt g	2. Schnitt g	3. Schnitt g	Total g	1. Schnitt g	2. Schnitt g	3. Schnitt g	Total g
	406	25.8	18.6	14.9	59.3				
—	407	24.4	17.9	13.1	55.4	25.0	20.1	12.1	57.2
	408	24.7	23.7	8.4	56.8				
1.311 g Kali-benzoat	409	22.3	23.5	15.3	61.1				
	410	21.9	21.2	15.6	58.7	21.7	22.4	14.4	58.5
	411	20.9	22.6	12.4	55.9				
2.622 g Kali-benzoat	412	19.6	18.8	11.2	49.6				
	413	17.9	23.6	14.3	55.8	19.2	21.6	12.3	53.1
	414	20·0	22.4	11.5	53.9				
3.933 g Kali-benzoat	415	14.9	21.4	11.8	48.1				
	416	14.8	20.3	11.5	46.6	15 9	20.7	14.2	50.8
	417	17.9	20.5	19.2	57.6				

Tabelle VII.

Volldüngung. Vegetationsversuche: 1906.

Ernte-Erträge.

Versuchsreihe: 242. Erde: Liebefeld B. 103d.

Versuchspflanze: Goldhafer. Datum der Einsaat: 11. Mai 1906.

Datum der Ernte: 13./VII., 10./VIII., 18./IX.

Düngung	Gefäss Nr	Erträge der Einzelversuche an Trockensubstanz				Mittelertrag an Trockensubstanz			
		1. Schnitt g	2. Schnitt g	3. Schnitt g	Total g	1. Schnitt g	2. Schnitt g	3. Schnitt g	Total g
	418	29.3	11.0	17.5	57.8				
———	419	29.7	11.0	16.0	56.7	29.6	11.1	17.5	58.2
	420	29.8	11.2	18.9	59.9				
	421	30.7	10.4	19.2	60.3				
0.1 g Parakresol	422	29.7	10.5	18.7	58.9	30.1	10.4	19.3	59.8
	423	29.8	10.3	20.0	60.1				
	424	29.1	10.7	16.4	56.2				
0.2 g Parakresol	425	27.4	10.1	15.7	53.2	28.6	10.6	16.8	56.0
	426	29.2	11.0	18.4	58.6				
	427	27.7	10.6	15.6	53.9				
0.3 g Parakresol	428	27.1	10.3	18.3	55.7	27.7	10.6	17.8	56.1
	429	28.2	11.0	19.6	58.8				

Tabelle VIII.

Phosphorsäure-Hunger. Vegetationsversuche: 1906.

Ernte-Erträge.

Versuchsreihe: 244. Erde: Liebefeld B. 103 d.

Versuchspflanze: Goldhafer. Datum der Einsaat: 11. Mai 1906.

Datum der Ernte: 1. Schnitt 10./VIII., 2. Sch. 18. IX.

Düngung	Gefäss Nr.	Erträge der Einzelversuche an Trockensubstanz			Mittelertrag an Trockensubstanz		
		1. Schnitt g	2. Schnitt g	Total g	1. Schnitt g	2. Schnitt g	Total g
———	447	12.1	7.7	19.8			
	448	12.7	8.1	20.8	12.6	8.2	20.8
	450	12.9	8.8	21.7			
0 1 g Parakresol	459	12.6	9.0	21.6			
	460	12.3	8.0	20.3	12.5	8.5	21.0
	462	12.5	8.6	21.1			
0.2 g Parakresol	463	11.2	9.0	20.2			
	465	11.6	8.1	19.7	11.7	8.1	19·8
	470	12.4	7.1	19.5			
0.4 g Parakresol	471	12.1	6.7	18.8			
	473	12.1	8.3	20.4	11.5	7.4	18.9
	476	10.2	7.2	17.4			

Tabelle IX.

Stickstoff-Hunger. Vegetationsversuche: 1906.

Ernte-Erträge.

Versuchsreihe: 246. Erde: Liebefeld B. 103d.

Versuchspflanze: Goldhafer. Datum der Einsaat: 11. Mai 1906.

Datum der Ernte: 13./VII., 10./VIII., 18./IX.

Düngung	Gefäss Nr	Erträge der Einzelversuche an Trockensubstanz				Mittelertrag an Trockensubstanz			
		1. Schnitt g	2. Schnitt g	3. Schnitt g	Total g	1. Schnitt g	2. Schnitt g	3. Schnitt g	Total g
	528	13.0	3.6	3.3	19.9				
———	536	14,9	3.8	3.1	21.8	13.8	3.7	3.2	20.7
	540	13.6	3.7	3.2	20.5				
	541	12.8	3.6	3.0	19.4				
0.1 g Parakresol	543	12.9	3.6	3.1	19.6	13.0	3.5	3.0	19.5
	547	13.4	3.3	3.0	19.7				
	549	12.9	3.4	3.0	19.3				
0.2 g Parakresol	550	13.5	3.9	3.0	20.4	13.3	3.6	2.9	19.8
	551	13.4	3.6	2.8	19.8				
	552	12.3	3.4	3.2	18.9				
0.4 g Parakresol	553	11.8	3.7	3.0	18.5	12.2	3.6	3.0	18.8
	554	12.5	3.6	2.7	18.8				

Tabelle X.

Volldüngung. Vegetationsversuche: 1906.

Ernte-Erträge.

Versuchsreihe: 243. Erde: Liebefeld B. 103 d.

Versuchspflanze: Weissklee. Datum der Einsaat: 11. Mai 1906.

Datum der Ernte: 13./VII., 10./VIII., 18/IX.

Düngung	Gefäss Nr.	Erträge der Einzelversuche an Trockensubstanz				Mittelertrag an Trockensubstanz			
		1. Schnitt g	2. Schnitt g	3. Schnitt g	Total g	1. Schnitt g	2. Schnitt g	3. Schnitt g	Total g
———	430	27.5	25.0	17.8	68.3				
	431	27.2	21.4	17.5	66.1	27.6	21.4	16.2	65.2
	432	28.1	19.8	13.4	61.3				
0.1 g Parakresol	433	27.7	20.7	15.2	63.6				
	434	29.5	20.7	15.3	65.5	28.2	20.7	16.1	65.0
	435	27.5	20.6	17.9	66.0				
0.2 g Parakresol	436	28.3	21.5	14.4	64.2				
	437	27.5	22.3	14.8	64.6	27.9	21.8	13 9	63.6
	438	28.0	21.7	12.6	62.3				
0.4 g Parakresol	440	27.1	24.9	18.5	70.5				
	442	28.3	21.7	13.1	63.1	27.2	23.1	15.1	65.4
	444	26.2	22.8	13.7	62.7				

Tabelle XI.

Phosphorsäure-Hunger. Vegetationsversuche: 1906.

Ernte-Erträge.

Versuchsreihe: 245. Erde: Liebefeld B. 103 d.

Versuchspflanze: Weissklee. Datum der Einsaat: 11. Mai 1906.

Datum der Ernte: 10./VIII., 18./IX.

Düngung	Gefäss Nr.	Erträge der Einzelversuche an Trockensubstanz			Mittelertrag an Trockensubstanz		
		1. Schnitt g	2. Schnitt g	Total g	1. Schnitt g	2. Schnitt g	Total g
	478	12 4	4.4	16.8			
———	482	11.4	4.9	16.3	21.1	4.3	16.4
	484	12.5	3.7	16.2			
	485	12.5	4.5	17.0			
0.1 g Parakresol	506	11.8	4.4	16.2	12.2	4.2	16.4
	507	12.2	3.7	15.9			
	510	12.1	4.2	16.3			
0.2 g Parakresol	512	13.6	4.9	18.5	12.8	4.2	17.0
	517	12.6	3.6	16.2			
	520	12.7	4.2	16.9			
0.4 g Parakresol	522	11.4	3.1	14.5	12.1	3.9	16.0
	527	12.1	4.5	16.6			

Tabelle XII.

Stickstoff-Hunger. Vegetationsversuche: 1906.

Ernte-Erträge.

Versuchsreihe: 247. Erde: Liebefeld B. 103 d

Versuchspflanze: Weissklee. Datum der Einsaat: 11. Mai 1906.

Datum der Ernte: 13./VII., 10./VIII., 18./IX.

Düngung	Gefäss Nr.	Erträge der Einzelversuche an Trockensubstanz				Mittelertrag an Trockensubstanz			
		1. Schnitt g	2. Schnitt g	3. Schnitt g	Total g	1. Schnitt g	2. Schnitt g	3. Schnitt g	Total g
	556	23.2	21.9	13.7	58.8				
—	562	20.9	21.9	13.3	56.1	22.2	19.2	13.9	55.3
	563	22.4	13.9	14.8	51.1				
	564	19.5	18.1	13.8	51.4				
0.1 g Parakresol	565	21.8	16.8	9.6	48.2	21.1	18.5	11.1	50.7
	566	21.9	20.5	9.9	52.3				
	567	21.2	21.4	9.5	52.1				
0.2 g Parakresol	568	21.4	18.8	12.5	52.7	21.1	20.1	10.8	52.0
	569	20.6	20.1	10.5	51.2				
	570	21.3	20.6	12.8	54.7				
0.4 g Parakresol	571	16.7	21.4	14.6	52.7	19.5	20.9	13.8	54.2
	572	20.5	20.8	14.1	55.4				

Es bleibt mir noch die angenehme Pflicht, den Herren Dr. *Paul Liechti,* Bern und Prof. Dr. *Rupe,* Basel, für das dieser Arbeit entgegengebrachte Interesse u. die mir erteilten Ratschläge herzlich zu danken. Besondern Anspruch auf meine Erkenntlichkeit hat sich ausserdem Herr Dr. *Liechti* für die Anregung zu vorstehender Arbeit, für seine Unterstützung und seine Bereitwilligkeit erworben, die Arbeit in dem, unter seiner Direktion stehenden Institut ausführen zu lassen.

Bern, Juli 1908, Schweizerische Agrikulturchemische Anstalt Liebefeld.

Vita.

Geboren zu Altstätten, Ct. St. Gallen, am 18. Juni 1875, durchlief ich Werner Mooser von Altstätten, die Primar- und Realschule meiner Vaterstadt, besuchte darauf die st. gallische Kantonsschule und kam nach zweijährigem Aufenthalt an der Ecole cantonale d'agriculture à Cernier (Neuchâtel) im Oktober 1894 nach Paris an das Institut National Agronomique.

Gleichzeitig immatrikulierte ich mich an der Universität, Faculté des Sciences, und erhielt einen Arbeitsplatz im Laboratorium des Herrn *Prof. Troost,* Ecole des Hautes Etudes an der Sorbonne Die folgenden Jahre arbeitete ich in den Laboratorien der Herren *Prof. Friedel* (organische Chemie), *Prof. Dastre* (Experimentelle Physiologie) dann im Institut Pasteur unter *Prof. Duclaux.* Nach Erlangung der nach Gesetz vom Juli 1895 und Januar 1896 zur Zulassung vorgeschriebenen Universitätsgrade und Erfordernisse, erwarb ich mir auf Grund der Examen in Physiologie, Bakteriologie, und Chemie das Doctorat de l'Université.

Ende 1898 kam ich an die Schweizerische agrikulturchemische Anstalt Bern, wurde anno 1900 zum Assistenten I. Klasse und 1903 zum verantwortlichen Leiter der Controlltätigkeit und Stellvertreter des Vorstands ernannt, welche Amtsstelle ich gegenwärtig noch bekleide.